

CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA Y GENÉTICA DE GERMOPLASMA MEJORADO DE SOYA*

MORPHO-AGRONOMIC AND GENETIC CHARACTERIZATION OF SOYBEAN BRED GERMPLASM

Homar Rene Gill-Langarica¹, Víctor Pecina-Quintero², Nicolás Maldonado-Moreno², Sanjuana Hernández-Delgado¹ y Netzahualcóyotl Mayek-Pérez^{1§}

¹Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional. Apartado Postal 152. 88730 Cd. Reynosa, Tamaulipas, México. ²Campo Experimental Río Bravo, INIFAP. §Autor para correspondencia: nmayek@ipn.mx

RESUMEN

El análisis de la diversidad genética del germoplasma de soya es importante para la identificación de los genotipos mejor adaptados a las condiciones agroclimáticas de una región. En esta investigación se caracterizaron 108 genotipos de soya: nueve variedades introducidas de soya, cinco mexicanas y 94 líneas experimentales con 18 parámetros morfoagronómicos y marcadores moleculares AFLP con el objetivo de determinar las relaciones genéticas y la diversidad genética en el germoplasma. En 2004 se evaluaron 82 genotipos por sus características morfoagronómicas en el Campo Experimental Sur de Tamaulipas. El color de las vainas y de la pubescencia de las vainas, número de vainas con un grano y con dos granos, y peso de la semilla fueron las variables con mayor valor descriptivo de acuerdo con el análisis de componentes principales. Con base en estas características, el germoplasma de soya se dividió en tres grupos. En el grupo I se incluyó el germoplasma con vainas y pubescencia de vainas grises, valores intermedios en vainas con una y dos semillas, y bajo peso de semilla y rendimiento. En el grupo II, el que mostró color de la pubescencia y de vaina café y alto rendimiento, y en el grupo III el que presentó valores intermedios en todas las características mencionadas. El dendrograma obtenido con datos AFLP presentó tres grupos principales de genotipos, con disimilitud genética de 7.25 a 8.25%. El grupo I incluyó líneas derivadas de los progenitores Júpiter y Santa Rosa, así como variedades

mexicanas y extranjeras; el grupo II incluyó variedades introducidas, líneas experimentales derivadas de Júpiter y variedades mexicanas; el grupo III sólo incluyó líneas experimentales. Las variedades introducidas Júpiter y Santa Rosa generaron 38 y 37% de la variabilidad genética total, respectivamente. El análisis de componentes principales de datos AFLP no separó las variedades introducidas de las mexicanas, aunque las líneas experimentales derivadas de Santa Rosa y Júpiter fueron diferentes a estos progenitores. El análisis de varianza molecular indicó reducida diversidad genética en el germoplasma de soya. Los resultados indicaron que no existe estrecha asociación entre los patrones de variabilidad genética y morfoagronómica en soya, y que es necesario ampliar la base genética del germoplasma de soya en México.

Palabras clave: *Glycine max* (L.) Merr., diversidad, marcadores moleculares AFLP.

ABSTRACT

The analysis of genetic diversity in soybean germplasm is important for the identification of contrasting and complementary parental genotypes for its utilization in a given region. In this work nine introduced and eight local

* Recibido: Julio de 2005
Aceptado: Agosto de 2006

cultivars as well as 94 experimental soybean lines were characterized with 18 agronomic traits and AFLP molecular markers in order to determine the genetic relationships and genetic diversity in the germplasm. During 2004 at the Experimental Station South of Tamaulipas, Mexico, a subset of 82 genotypes was evaluated under field conditions. Based on results of a principal component analysis, color of pod and pubescence, number of pods with one and with two seeds and seed weight were the most descriptive agronomic traits. Using those traits, genotypes were then classified in three groups. Group I included genotypes with grey pod and pod pubescence, intermediate number of pods with one and two seeds and low seed weight and seed yield; group II included genotypes with brown pods and pod pubescence and high seed yield; group III with genotypes of intermediate values for all traits. The dendrogram constructed based on AFLP data showed three major groups of genotypes with genetic dissimilarity from 7.25 to 8.25%. Group I included lines derived from cultivars Jupiter and Santa Rosa, local and introduced cultivars; group II included introduced cultivars, experimental lines derived from Jupiter and local cultivars; group III only included experimental lines. Cultivars Jupiter and Santa Rosa generated 38 and 37% of the total genetic variability, respectively. Principal component analysis from AFLP data did not separate introduced from local cultivars, although experimental lines derived from Santa Rosa and Jupiter were distinct from their parents. An analysis of molecular variance showed reduced genetic diversity. No significant association was found between genetic and agronomic variability patterns in the genotypes characterized. Broadening the soybean genetic basis of the germplasm in Mexico, is urgently needed.

Key words: *Glycine max* (L.) Merr., genetic diversity, AFLP molecular markers.

INTRODUCCIÓN

La soya [*Glycine max* (L.) Merr.] es originaria de Asia y es la oleaginosa que más se comercializa en el mundo. La soya se adapta a diversos climas, aunque se desarrolla de manera óptima en regiones tropicales (Pecina *et al.*, 2005). En 2004, en México se sembraron 96 400 ha con soya con una producción de 133 200 t (1.4 t ha^{-1}). En el caso de Tamaulipas se sembraron 57 400 ha (60% del total nacional) con una producción de 93 600 t (1.6 t ha^{-1}) (SIAP, 2006). El grado de adaptación del germoplasma de soya exótico en ambientes contrastantes es importante para la selección

de progenitores; sin embargo, la selección por sí misma no predice la probabilidad de éxito en combinaciones alélicas. Los programas de mejoramiento genético han utilizado características morfológicas y bioquímicas para la selección de variedades de soya; aunque estas características son importantes, presentan limitaciones particularmente cuando se utilizan variedades emparentadas como progenitores ya que se incrementa el grado de endogamia (Nelson *et al.*, 1987 y 1988; Juvik *et al.*, 1989; Perry y McIntosh, 1991; Gizlice *et al.*, 1994; Sneller, 1994; Bernard *et al.*, 1998; Priolli *et al.*, 2002) ya que se incrementa el grado de endogamia.

Diversos estudios con marcadores moleculares como el Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLPs) indican que la soya cultivada presenta niveles bajos de diversidad genética (Keim *et al.*, 1992; Shoemaker *et al.*, 1992; Skorupska *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 1998; Li y Nelson, 2001; Chowdhury *et al.*, 2002; Xu y Gai, 2003); microsátélites (SSRs) (Akkaya *et al.*, 1992; Maughan *et al.*, 1995 y 1996; Doldi *et al.*, 1997; Jin *et al.*, 2003) o Polimorfismos en la Longitud de los Fragmentos Amplificados (AFLPs) (Maughan *et al.*, 1996; Ude *et al.*, 2003; Pecina *et al.*, 2005). Lo anterior se debe fundamentalmente a que el germoplasma analizado está estrechamente emparentado entre sí, dada la reducida base genética de la que han partido la mayoría de los programas de mejoramiento genético de la soya en el mundo (Gizlice *et al.*, 1994). Los altos niveles de parentesco entre los progenitores que utilizan soya podrían limitar el éxito de los programas de mejoramiento genético de soya. Las introducciones de germoplasma y adaptación proveen variabilidad genética, pero poco se utilizan como fuente de nuevos genes de rendimiento (Ude *et al.*, 2003).

Las poblaciones desarrolladas a partir de la cruce entre introducciones seleccionadas por sus características fenotípicas, generalmente tienen menor rendimiento y producen con menor frecuencia líneas deseables comparadas con las desarrolladas a partir del cruzamiento entre progenitores élite adoptados (Ininda *et al.*, 1996). Thompson *et al.* (1998) y Narvel *et al.* (2000) han identificado, por medio de marcadores moleculares de ADN, introducciones genéticamente distintas y aptas para su uso en programas de mejoramiento genético de soya; con ellas, los resultados han sido más exitosos que los obtenidos con programas de mejoramiento genético convencional para la producción de líneas superiores de cruces de introducciones con genotipos élite. El análisis molecular del germoplasma de soya que se utiliza en México podría asistir, a los mejoradores de

esta especie, en la selección de progenitores genéticamente distantes y complementarios para desarrollar diversidad genética y obtener progenies superiores (Hudcovicová y Kraic, 2003).

El objetivo de esta investigación fue determinar la diversidad y las relaciones genéticas del germoplasma de soya desarrollado en el sur de Tamaulipas.

Las hipótesis del estudio fueron: i) existe escasa diversidad morfoagronómica y genética en las variedades de soya utilizadas en México y ii) no existe asociación significativa entre los patrones de diversidad morfoagronómica y genética en soya.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se estudiaron 108 genotipos de soya: nueve variedades comerciales provenientes de EE. UU., Taiwán y Brasil; cinco variedades desarrolladas en México y 94 líneas experimentales generadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). La relación de accesiones, origen y condición genética se consignan en el Cuadro 1. Con excepción de las variedades Suaqui 86 y Surubi, que pertenecen al grupo de maduración V (24° a 33° latitud norte), el resto del germoplasma pertenece al grupo de maduración IX (14° a 22° latitud norte) (USDA, 1995).

Caracterización morfoagronómica

Se sembraron 82 genotipos del germoplasma arriba mencionado bajo condiciones de riego en el Campo Experimental Sur de Tamaulipas (CESTAM) del INIFAP, ubicado en Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas (25° 59' LN; 98° 06' LO y 30 msnm). El germoplasma se cultivó de acuerdo con el paquete tecnológico desarrollado por INIFAP (1999) para la producción de soya bajo condiciones de riego en el sur de Tamaulipas. Se registraron ocho características morfológicas de acuerdo con los descriptores de soya del Departamento de Agricultura de EE. UU. (USDA, 1995) (Cuadro 2). Se sembraron 50 semillas de cada genotipo en un surco de 5 m de largo con separación entre surcos de 0.76 m (parcela experimental de 3.8 m²) el 15 junio de 2004. En cinco plantas de cada genotipo se registraron la altura de planta a la primera vaina, altura de planta a la cosecha, número de vainas por planta con uno, dos y tres granos; peso

de semilla (rendimiento de semilla/número de semillas por planta). En la parcela experimental se estimaron los días a floración completa, porcentaje de humedad de la semilla a la cosecha, rendimiento al 14% de humedad y el porcentaje de acame.

Caracterización genética

Los 108 genotipos se sembraron en el invernadero del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (IPN) en Reynosa, Tamaulipas, México, el 22 de septiembre de 2004. Se sembraron 12 semillas de cada genotipo en charolas de poliestireno de 96 pozos con sustrato "Peat Moss Tourbe" (Premier®; Québec, Canadá). La extracción del ADN genómico total se llevó a cabo con el método de Dellaporta *et al.* (1983). El germoplasma se analizó con el método AFLP (Vos *et al.*, 1995). Para la digestión del ADN se utilizó una mezcla de reacción de 50 µL que contenía 1 µL de ADN (150 ng µL⁻¹); 3 µL de *EcoRI* (Roche®) de 10 U µL⁻¹; 3 µL de *Tru9I* (Roche®) de 10 U µL⁻¹ y 5 µL de RL 10X. Las muestras se incubaron por 4 h a 37 °C. Enseguida, las enzimas se inactivaron a 70 °C por 15 min y posteriormente, se ligaron los adaptadores específicos a los sitios de restricción. La mezcla de ligación consistió de 1 µL del adaptador *EcoRI* (5 pmol), 1 µL del adaptador *MseI* (50 pmol), 1.2 µL de ATP 10 mM, 1 µL de buffer RL 10X y 1 µL de T₄ DNA ligasa (Roche®) de 1 U µL⁻¹, en un volumen total de 10 µL.

La preamplificación incluyó 5 µL de la mezcla de ligación más la adición de una mezcla de los oligonucleótidos AFLP específicos (50 ng µL⁻¹); 2 µL de dNTPs 10 mM, en un volumen total de 25 µL. La mezcla de reacción complementaria se preparó con 0.2 µL de *Taq* DNA polimerasa (Roche®) (5 U µL⁻¹) y 5 µL de buffer de PCR 10X, en un volumen final de 20 µL. El volumen total de la mezcla de reacción fue 50 µL. La mezcla se sometió a amplificación por PCR en un termociclador GeneAmp 9700 (Applied Biosystems®). Se utilizó el siguiente programa de PCR: 94 °C por 30 s; 56 °C por 60 s y 72 °C por 60 s por 20 ciclos. Posteriormente, se tomaron 3 µL del ADN pre-amplificado y se agregó 0.5 µL del oligonucleótido de *EcoRI* + 3 (*EcoRI* + AGG), 0.6 µL del oligonucleótido *MseI* + 3, ambos con una concentración de 50 ng µL⁻¹, así como 0.4 µL de la mezcla de dNTPs 10 mM, para un volumen total de 5 µL; además de 0.2 µL de *Taq* DNA polimerasa de 5 U µL⁻¹ y 2 µL de amortiguador para PCR 10 X, para un volumen total de 10 µL. La mezcla de reacción se sometió al siguiente programa de PCR: 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s y 72 °C por 60 s; esto por 11 ciclos donde la temperatura de alineamiento se redujo en 0.7 °C

Cuadro 1. Relación del germoplasma de soya utilizado en el estudio

Genotipo	Estatus genético	Procedencia	Genotipo	Estatus genético	Procedencia
AGS-154	VE	Taiwán	H85-2754	LE	México
Curio	VE	Brasil	H85-3340*	LE	México
DM-301	VE	Brasil	H82-2162*	LE	México
Doko	VE	Brasil	H85-2339	LE	México
EMBRAPA-48*	VE	Brasil	H85-2206*	LE	México
Júpiter	VE	EE. UU.	H82-2641	LE	México
Santa Rosa	VE	Brasil	H85-1280	LE	México
Tukano*	VE	Brasil	H96-0357	LE	México
UFV-1	VE	Brasil	H82-2658	LE	México
Huasteca-100	VM	México	H85-1031*	LE	México
Huasteca-200	VM	México	H86-4363*	LE	México
Tapachula-86	VM	México	H82-2014	LE	México
Suaqui-86	VM	México	H88-2166*	LE	México
Surubi	VM	México	H86-5201*	LE	México
H96-0431	LE	México	H84-2895	LE	México
H86-4965	LE	México	H82-1927*	LE	México
H86-4645	LE	México	H85-2828*	LE	México
H96-0065	LE	México	H94-0751	LE	México
H96-0889	LE	México	H94-0764	LE	México
H96-0147	LE	México	H86-4834*	LE	México
H96-0209	LE	México	H88-4926*	LE	México
H96-0210	LE	México	H88-4482	LE	México
H96-0786	LE	México	H96-0504	LE	México
H96-0283	LE	México	H98-1172*	LE	México
H81-1706	LE	México	H82-1838*	LE	México
H86-4717	LE	México	H98-0962	LE	México
H96-0383	LE	México	H98-0996*	LE	México
H80-1852	LE	México	H96-1068	LE	México
H86-4563	LE	México	H98-1413	LE	México
H86-5030	LE	México	H98-0917	LE	México
H86-3687 (FM)	LE	México	H98-0909	LE	México
H86-3967	LE	México	H98-0740	LE	México
H85-2325	LE	México	H80-1087*	LE	México
H85-3526	LE	México	H80-0994	LE	México
H85-2372	LE	México	H94-1597	LE	México
H98-1504	LE	México	H96-0668	LE	México
H98-1066	LE	México	H80-2096	LE	México
H96-1331	LE	México	H82-1835*	LE	México
H98-1641	LE	México	H80-2058	LE	México
H96-1096	LE	México	H82-2052	LE	México
H98-1484	LE	México	H85-3500	LE	México
H85-1875	LE	México	H85-3052*	LE	México
H88-1880	LE	México	H88-4568	LE	México
H81-1808	LE	México	H88-4290	LE	México
H80-1646	LE	México	H98-0777	LE	México
H80-1969	LE	México	H98-1482	LE	México
H80-1773	LE	México	H85-2382*	LE	México
H80-1028	LE	México	H86-3005*	LE	México
H98-1076	LE	México	H86-2796*	LE	México
H98-1552	LE	México	H98-0881	LE	México
F81-5428*	LE	EE. UU.	H88-0031	LE	México
H96-1256	LE	México	H82-2352*	LE	México
H85-2456	LE	México	H84-2792*	LE	México
H85-0771	LE	México	H82-2110*	LE	México

VE= Variedad introducida; VM= Variedad mexicana; LE= Línea experimental; * No incluidas en el análisis morfoagronómico en campo.

Cuadro 2. Características morfológicas y escala de medida en 82 genotipos de soya establecidos en campo.

Característica	Escala ¹
Forma de la semilla	1= esférica, 2= esférica aplanada, 3= alargada, 4= aplanada
Color de cubierta de la semilla	1= amarillo intenso, 2= medio, 3= ligero, 4= medio ligero, 5= verdoso, 6= verdoso ligero
Lustre de la cubierta de la semilla	1= opaca, 2= brillante
Color del hilum	1= piel, 2= amarillo, 3= café, 4= gris, 5= negro, 6= negro imperfecto
Peso semilla	gramos
Color del hipocótilo	1= verde, 2= morado
Color de la flor	1= blanco, 2= morado
Color de la vaina	1= gris, 2= café
Color de la pubescencia de la vaina	1= gris, 2= café

¹ USDA (1995)

por cada ciclo y, posteriormente, continuó con el siguiente programa de PCR: 94 °C por 30 s, 56 °C por 30 s y 72 °C por 60 s durante 23 ciclos. Los productos amplificados se separaron en gel de acrilamida al 6%. La electroforesis se realizó a 2000 V por 3 h. Para la detección de los productos amplificados se utilizó el Silver Sequence Staining Reagents Kit de Promega®.

Análisis estadístico de datos morfoagronómicos

Con la información obtenida en campo se calcularon media, rango, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de las características morfoagronómicas cuantitativas medidas en los 82 genotipos. Además, se calcularon las frecuencias de clase de cada característica cualitativa estimada. Finalmente, la información de las características morfoagronómicas se sometió al análisis de componentes principales (ACP) y al análisis de conglomerados que incluyó solo las variables con mayor valor descriptivo de acuerdo con el ACP. El análisis se realizó con el programa de cómputo Statistica versión 5.0 (StatSoft, 1997).

Análisis estadístico de datos AFLP

El polimorfismo detectado por cada combinación de iniciadores AFLP se determinó con base en la presencia o ausencia de cada banda, donde se asignó 1 a la presencia y 0 a la ausencia. Se elaboró una matriz de ceros y unos que se utilizó para determinar la distancia genética entre cada par de genotipos con base en el coeficiente de apareamiento simple (Skroch *et al.*, 1992) y cuya ecuación se presenta a continuación:

Coeficiente de apareamiento simple = $a + d / (a + b + c + d)$

donde:

a= número de apareamientos 1, 1 entre productos amplificados de pares de genotipos

b= número de apareamientos 1, 0 entre productos amplificados de pares de genotipos

c= número de apareamientos 0, 1 entre productos amplificados de pares de genotipos

d= número de apareamientos 0, 0 entre productos amplificados de pares de genotipos

La matriz se utilizó para construir un dendrograma con el algoritmo UPGMA (Un-weighted pair-grouping method using arithmetic averages) (Hair *et al.*, 1992) y con el programa Statistica. La matriz de ceros y unos se usó para calcular el análisis de varianza molecular (AMOVA) (Schneider *et al.*, 1996) de acuerdo con las siguientes jerarquías propuestas: grupos = variedades mexicanas y variedades extranjeras; poblaciones dentro de grupos = variedades y líneas experimentales mexicanas; variedades extranjeras, la variedad Santa Rosa y la variedad Júpiter. Además, se calculó el índice de la diversidad genética del germoplasma con base en la fórmula de Powell *et al.* (1996):

$$D = 1 - \sum_{i=1}^s P_i^2$$

donde:

D = Índice de diversidad genética

P_i = Frecuencia de una banda dada en una población

S = Número total de bandas

El análisis estadístico se realizó con el paquete Statistica versión 5.0 (StatSoft, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Análisis morfoagronómico. Las 18 características morfoagronómicas medidas se clasificaron en cualitativas y cuantitativas. Tres características cualitativas mostraron más de tres clases fenotípicas y el resto solo presentó dos (Cuadro 3). Algunas características cuantitativas fueron altamente variables, tales como altura de la primera vaina, color de la cubierta de las semillas, vainas con tres granos y un grano (Cuadro 4).

Cuadro 3. Resumen de las características cualitativas registradas en 82 genotipos de soya cultivados en Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas. 2004.

Característica	Clase ¹
Forma de la semilla	1(5), 2(53), 3(4), 4(20)
Color de cubierta de la semilla	1(14), 2(41), 3(16), 4(2), 5(2), 6(7)
Lustre de la cubierta de la semilla	1(74), 2(8)
Color del hilum	1(6), 2(1), 3(42), 4(2), 5(8), 6(23)
Color del hipocótilo	1(41), 2(41)
Color de la flor	1(41), 2(41)
Color de la vaina	1(9), 2(73)
Color de la pubescencia de la vaina	1(9), 2(73)

¹ Los números entre paréntesis indican el número de genotipos observados en cada clase.

Cuadro 4. Resumen estadístico de las características cuantitativas registradas en 82 genotipos de soya cultivados en Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas. 2004.

Característica	Parámetro descriptivo				
	Media	Rango	Varianza	Desviación estándar	CV (%)
Días a floración completa	50.87	31.00	31.67	5.63	11.07
Altura a primera vaina	35.58	63.00	381.23	19.53	54.89
Altura a cosecha	90.78	98.00	378.80	19.46	21.44
Vainas con tres granos	54.40	212.00	1381.13	37.16	68.31
Vainas con dos granos	168.36	345.00	6247.95	79.04	46.95
Vainas con un grano	23.92	81.00	244.98	15.65	65.43
Peso de semilla	69.33	130.00	589.50	24.28	35.02
Porcentaje de humedad	13.18	8.80	1.40	1.18	8.95
Rendimiento	0.79	1.81	0.11	0.33	18.33
Acame	1.72	2.00	0.67	0.82	47.67

CV = Coeficiente de variación.

El ACP explicó 45% del total de la variación observada en los primeros tres componentes principales obtenidos (Cuadro 5). Siete características fueron las más importantes: tres cualitativas (color de la vaina, color de la pubescencia de la vaina y acame de planta) y cuatro cuantitativas (vainas con uno y dos granos, peso de semilla y altura de planta a cosecha) (Cuadro 6).

Se observaron tres grupos principales de genotipos con base en el ACP. El grupo I incluyó ocho líneas experimentales que muestran color gris de la vaina y de la pubescencia, con valores intermedios de vainas con dos granos y un grano; peso de semilla y rendimiento de semilla. El grupo II incluyó nueve líneas experimentales que muestran pubescencia de la vaina gris y vaina café; valores altos de vainas con uno y dos granos, y peso de semilla; así como altos rendimientos de semilla. El grupo III incluyó 65 accesiones de soya entre líneas experimentales, variedades mexicanas y extranjeras, y se caracterizan por valores intermedios de las características medidas (Figura 1).

Análisis genético. Las cuatro combinaciones de oligonucleótidos AFLP utilizadas amplificaron 278 productos en total, de los cuales 172 fueron polimórficos (60.73%) (Cuadro 7). El análisis de varianza molecular (AMOVA) indicó la existencia de diferencias significativas ($p < 0.001$) entre jerarquías (grupos= variedades mexicanas y variedades extranjeras; poblaciones dentro de grupos= variedades y líneas experimentales mexicanas; variedades extranjeras, la variedad Santa Rosa y la variedad Júpiter). La mayor varianza genética molecular se encontró dentro de las poblaciones de soya (Cuadro 8). El índice de diversidad genética fue menor en el germoplasma mejorado generado en el extranjero (33%) (Cuadro 9).

Tanto el análisis de conglomerados como el ACP de los datos moleculares mostraron estrecha relación genética entre el germoplasma de soya analizado. El ACP mostró diferencias genéticas entre las líneas experimentales derivadas de Santa Rosa y Júpiter en comparación con éstos, pues las líneas

producidas a partir de dichas variedades se dispersaron en ambos componentes principales (1 y 2) y se separaron claramente de los progenitores y de otras variedades mejoradas en México y en el extranjero (Figura 2).

Cuadro 6. Vectores característicos de las variables con mayor valor descriptivo en los genotipos de soya caracterizados morfoagronómicamente en campo bajo condiciones de riego. Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas. 2004.

Variable	Componente principal		
	1	2	3
Color de la flor	0.11	0.10	0.06
Color de la pubescencia de la vaina	-0.93 ¹	-0.01	0.01
Color de la vaina	-0.93	-0.01	0.01
Días a floración completa	0.05	0.22	-0.51
Altura a primera vaina	0.06	0.28	0.55
Altura a cosecha	-0.18	0.00	-0.87
Color del hilum	-0.49	0.10	-0.05
Brillo de la cubierta de la semilla	-0.20	-0.11	0.33
Forma de la semilla	0.01	0.53	0.05
Color de cubierta de la semilla	0.45	0.20	-0.20
Vainas con tres granos	0.10	0.13	0.09
Vainas con dos granos	-0.15	-0.79	0.06
Vainas con un grano	0.03	-0.71	0.16
Peso de semilla	0.02	-0.74	0.16
Porcentaje de humedad	-0.03	-0.06	-0.16
Rendimiento	0.19	-0.61	-0.11
Acame	0.11	0.06	-0.84
Color del hipocótilo	0.11	0.10	0.06
Varianza total explicada (%)	16.73	15.06	13.21
Varianza acumulada (%)	16.73	31.79	45.00

¹Los valores subrayados indican las variables con mayor valor descriptivo.

Cuadro 5. Vectores característicos con mayor valor descriptivo en las accesiones de soya analizadas morfoagronómicamente. Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas. 2004.

Componente principal	Valor característico	Varianza total (%)	Valor característico acumulado	Varianza total acumulada (%)
1	3.01	16.73	3.01	16.73
2	2.71	15.06	5.72	31.79
3	2.38	13.21	8.10	45.00

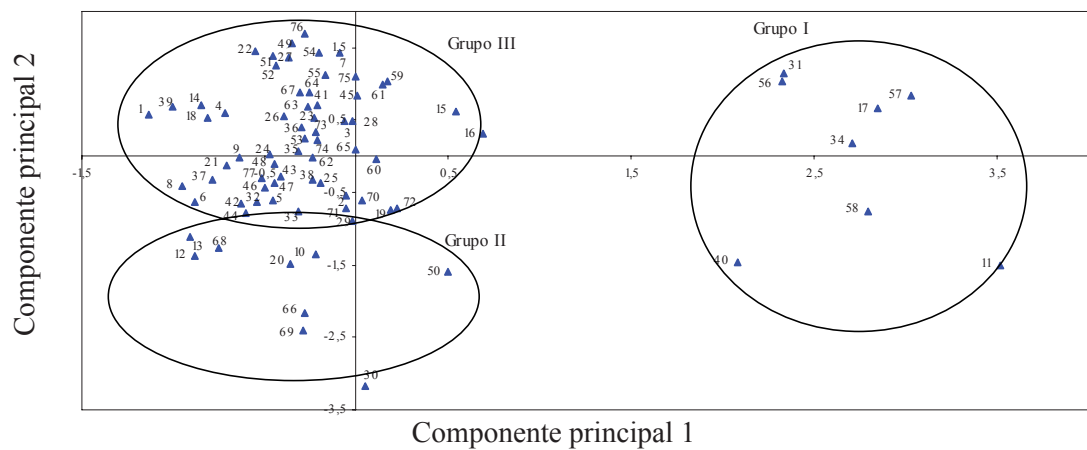


Figura 1. Dispersión del germoplasma de soya con base en los dos primeros componentes principales del análisis de componentes principales de datos morfoagronómicos de soya. Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas.

Cuadro 7. Iniciadores AFLP utilizados y número y porcentaje de bandas polimórficas detectadas en el germoplasma de soya.

Combinación AFLP <i>EcoRI/MseI</i>	Productos amplificados			Polimorfismo (%)
	Monomórficos	Polimórficos	Total	
AGG / ACA	13	43	56	76.8
ACC / AGT	25	41	66	62.1
AAC / ACA	29	68	97	70.1
AAC / AAG	39	20	59	33.9
Total / Media	106	172	278	60.7

Cuadro 8. Análisis de varianza molecular (AMOVA) del germoplasma de soya analizado con AFLPs.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	F
Entre grupos	1	92.761	0.12869	0.38	0.314
Entre poblaciones					
Dentro de grupos	3	162.142	1.61630	4.79	0.182
Dentro de poblaciones	103	3294.986	31.99016	94.83	0.009
Total	107	3549.889	33.73514	100.00	

g. l.= Grados de libertad.

Cuadro 9. Índices de diversidad genética del germoplasma de soja.

Combinación AFLP	Variedades introducidas (9) ¹	Variedades mexicanas (5)	Líneas experimentales (50)	Líneas derivadas	
				Santa Rosa (16)	Júpiter (28)
AGG/ACA	0.35	0.34	0.38	0.44	0.40
ACC/AGT	0.34	0.43	0.36	0.37	0.33
AAC/ACA	0.41	0.46	0.45	0.42	0.47
AAC/AAG	0.22	0.24	0.25	0.29	0.26
Media	0.33	0.37	0.36	0.38	0.37

¹Los números entre paréntesis indican la cantidad de genotipos por origen o condición genética.

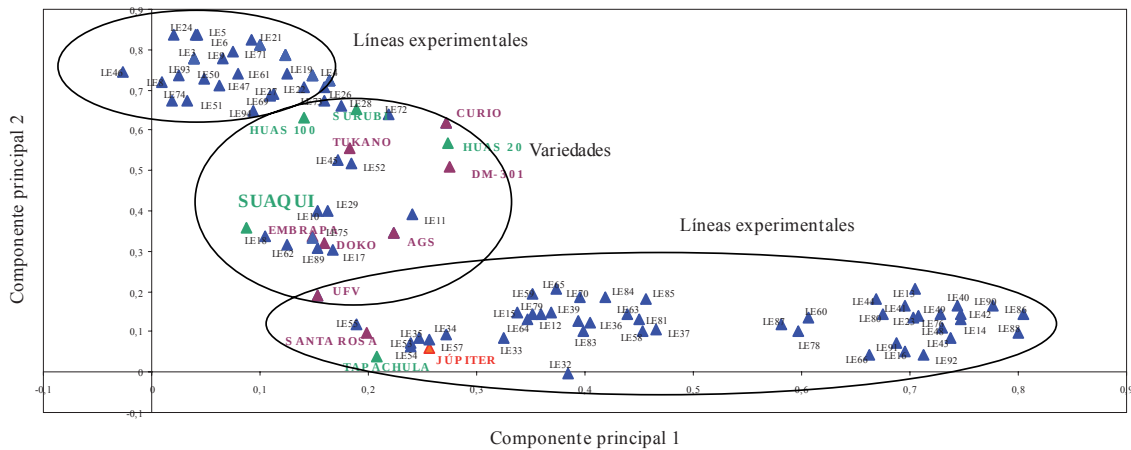


Figura 2. Dispersión del germoplasma de soja con base en datos AFLP y análisis de componentes principales de datos genéticos.

En el dendrograma de los datos AFLP se observó la formación de dos grupos principales de accesiones de soja con dos subgrupos de genotipos en cada caso. El primer grupo (A) incluyó 54 genotipos de los cuales se observaron tres líneas experimentales en A₁ y 41 líneas experimentales y cuatro variedades desarrolladas en México y seis variedades introducidas en A₂; mientras que B incluyó 54 genotipos de los cuales se observaron 28 líneas experimentales, tres variedades introducidas y una variedad mexicana en B₁ y en B₂ 22 líneas experimentales (Figura 3).

Discusión

Diversidad morfoagronómica. La reducida diversidad morfológica observada se explica por el alto grado de parentesco entre variedades y líneas utilizadas como progenitores en los programas de mejoramiento genético de la soja en EE. UU. (Sneller, 1994), Canadá y México

(Barriga, 1978). Cui *et al.* (2001) observaron mayor similitud fenotípica en germoplasma de soja de EE. UU. que entre variedades originarias de China. Las líneas ancestrales de soja utilizadas en los programas de mejoramiento genético de Estado Unidos de América fueron introducidas de China a principios del siglo XX. No obstante lo anterior, actualmente en China se utilizan variedades élite producidas en EE. UU. para el mejoramiento genético de la soja con rendimiento de 4.5 t ha⁻¹ (Li *et al.*, 2001), mientras que en México los máximos rendimientos son de 3 t ha⁻¹ en promedio.

Las características morfoagronómicas no discriminaron entre variedades mexicanas e introducidas, tal como lo observaron Cui *et al.* (2001), lo que está relacionado con un alto grado de parentesco entre el germoplasma estudiado en este trabajo. Lo anterior, porque la mayoría del germoplasma utilizado en el sur de Tamaulipas fue introducido de los EE. UU. Nueve líneas experimentales (H96-0383, H86-4717,

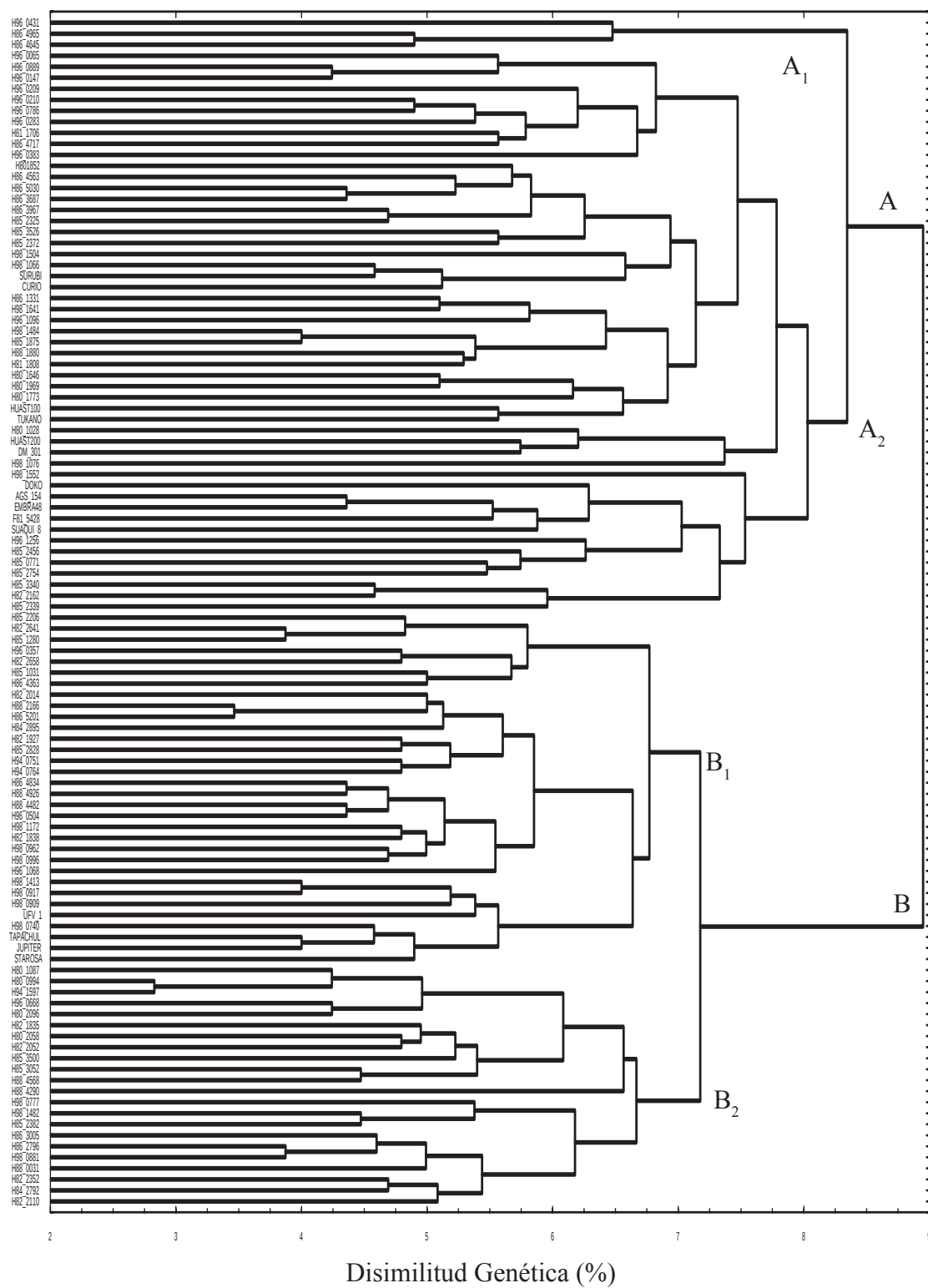


Figura 3. Dendrograma de disimilitudes genéticas entre accesiones de soya con base en el método UPGMA.

H84-2895, H96-0283, H85-3526, H88-0031, H94-0751, H82-2641, H81-1808) fueron divergentes al resto del germoplasma, lo que sugiere complementaridad de los progenitores utilizados en su desarrollo.

Diversidad genética. El polimorfismo detectado (60.7%) con los marcadores AFLP fue similar al reportado por Priolli *et al.* (2002) (64%) quienes utilizaron marcadores microsatélites y por Pecina *et al.* (2005) (60%) quienes utilizaron AFLPs en soya con orígenes diferentes. Sin embargo, fueron menores a los reportados por Rongwen *et al.* (1995) (74%); Hudcovicová y Kraic (2003) (69%) y Diwan y Cregan (1997) (69%) quienes utilizaron microsatélites en soya de distintos orígenes. Las diferencias en el nivel de polimorfismo detectado en dichos trabajos posiblemente estriban en que el germoplasma analizado tiene distinta y quizás más amplia base genética. Cui *et al.* (2000) indicaron que los mejoradores de soya de China evitan el uso de progenitores emparentados para la producción de líneas segregantes y continúan con la introducción de nuevo germoplasma para el desarrollo de variedades, inclusive con germoplasma de Estados Unidos de América, mismo que en la actualidad contribuye con 7% de la base genética de soya en China. Por el contrario, en Estados Unidos de América la base genética de la soya la constituyen pocos genotipos ancestrales (Gizlice *et al.*, 1994) ya que las variedades generadas entre 1947 y 1988 se originaron a partir de 16 líneas.

Las reducidas diferencias observadas entre poblaciones con base en sus orígenes indican que existe una relación estrecha entre los genotipos de soya evaluados en este trabajo. Pecina *et al.* (2005) encontraron estrecha relación genética entre 24 líneas élite de soya generadas por el INIFAP en el sur de Tamaulipas, México y nueve variedades introducidas principalmente de Brasil al programa de mejoramiento genético del INIFAP. Estos resultados contrastan con los de Ude *et al.* (2003) quienes con AFLPs observaron clara diferenciación entre un grupo de variedades de China, Japón, Estados Unidos de América y líneas ancestrales de Estados Unidos. Zhou *et al.* (2000) indicaron que el germoplasma élite de EE. UU. y de China debe utilizarse en Japón por los mejoradores de soya para desarrollar variedades élite e incrementar el rendimiento y ampliar la base genética. El índice de diversidad genética observado fue bajo (36%) y similar al reportado por Pecina *et al.* (2005) (31%) y otros autores quienes utilizaron diferentes fuentes de germoplasma y sistemas de marcadores moleculares de ADN (30% por Keim *et al.*, 1992; 31% por Powell *et al.*, 1996; 43% por Liu *et al.*, 2000). Los cultivares extranjeros

generaron 33% de la variabilidad genética total mientras que la variedad Santa Rosa generó 38% y Júpiter 37%. Esto indica la importancia de ambos cultivares en el mejoramiento genético de la soya en México al participar en la producción de 16 (Santa Rosa) y 28 líneas (Júpiter) experimentales. Es evidente que al estar ambos cultivares bien adaptados a la región del sur de Tamaulipas, generan líneas segregantes con buen comportamiento morfoagronómico, lo que indica que tienen buena aptitud combinatoria debido a que generan alta variabilidad genética y líneas con alto rendimiento.

El ACP de los datos AFLP no logró separar a las variedades mexicanas de las introducidas y las líneas élite generadas de las variedades Santa Rosa y Júpiter fueron distintas a sus progenitores, lo que sugiere la presencia de segregación transgresiva y nuevas combinaciones genéticas a partir del cruzamiento entre estos cultivares. Cabe aclarar que el germoplasma generado de las variedades Santa Rosa y Júpiter, y analizado en este trabajo fue tomado al azar. Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por Pecina *et al.* (2005) y Priolli *et al.* (2002), quienes no diferenciaron entre germoplasma de soya nacional y del extranjero.

El ACP de datos genéticos mostró las múltiples dimensiones de la distribución de los genotipos en un gráfico bi o tri-dimensional (Keim *et al.*, 1992) y así se pueden identificar relaciones multidimensionales que describen porciones de la varianza genética de un grupo de datos (Ude *et al.*, 2003). Los primeros dos componentes principales del ACP de datos AFLP explicaron 54.5% del total de la varianza genética observada, lo que se puede considerar como un buen nivel de explicación por ejemplo, Ude *et al.* (2003) reportaron que el análisis AFLP de germoplasma de tres orígenes distintos sólo explicó 15.4% del total de la varianza. No obstante que el ACP de datos genéticos no fue capaz de separar al germoplasma con base en el origen, si fue clara la separación de grupos de líneas experimentales respecto a variedades desarrolladas en México o introducidas. Estos resultados sugieren que las variedades introducidas y las locales forman un mismo acervo genético, por lo que deberá introducirse germoplasma de Asia al Programa Nacional de Soya del INIFAP. Por otra parte, el cruzamiento entre las variedades Santa Rosa y Júpiter o su uso como progenitores sugiere alta aptitud combinatoria general como se comprobó en campo, con mayor frecuencia de líneas con mejor adaptación y productividad (Pecina *et al.*, 2005), quizás también debido a la segregación transgresiva resultante del cruzamiento entre germoplasma élite de soya (Ude *et al.*, 2003).

El dendrograma generado de datos AFLP formó tres grupos principales de genotipos, en donde las variedades de soya de introducción, variedades liberadas en México y las líneas élite generadas se dispersaron sin patrón definido, con disimilitud máxima de 8.75%. Resultados similares en cuanto a similitud genética en germoplasma de soya fueron reportados por Ude *et al.* (2003); mientras que Pecina *et al.* (2005) observaron que la máxima distancia genética entre accesiones de soya fue de 25%, y 80% del germoplasma mostró baja disimilitud (4 a 12%). Priolli *et al.* (2002) observaron disimilitud promedio de 63% en soya, valor alto si se considera que el germoplasma estudiado era procedente de programas de mejoramiento de Estados Unidos e incluía variedades obtenidas en Brasil. Hiromoto y Vello (1986) reportaron que todas las variedades comerciales de soya en Brasil se derivaron de 26 genotipos ancestrales, responsables del 80% del acervo genético manejado. No obstante que a nivel internacional Brasil es un productor importante de soya, actualmente tiene una base genética reducida.

Implicaciones en mejoramiento genético. Los resultados enfatizan la existencia de estrecha relación entre las variedades comerciales de soya de introducción y las líneas y variedades Mexicanas obtenidas por mejoramiento genético en México. Además, las variedades Santa Rosa y Júpiter han contribuido de manera importante a la base genética de la soya para el trópico húmedo de México. El nivel de diversidad genética observado en el programa de mejoramiento de soya en México podrá ser un punto de referencia para el diseño de un programa de cruzamientos para aumentar la diversidad genética del mismo, por ejemplo mediante la selección de progenitores genéticamente distantes para así obtener la mayor variación genética posible en las progenies (Hudcovicová y Kraic, 2003). Aunque la diversidad morfoagronómica no fue alta, la diversidad genética si lo fue de acuerdo con los valores de polimorfismos detectados en este trabajo (mayores al 60%) y al incremento en los valores de diversidad genética en progenies derivadas de variedades comerciales, así como a la dispersión de dicho germoplasma segregante respecto a sus progenitores y a otro germoplasma mejorado de México y el extranjero. Pecina *et al.* (2005) indicaron que los altos valores de polimorfismos genéticos observados en soya, vía el análisis con marcadores moleculares de ADN, son factibles de ser explotados en el mejoramiento genético de este cultivo en México sin necesidad de nuevas introducciones exóticas. Se considera que la introducción de nuevo germoplasma silvestre o líneas élite de soya de China, Japón o EE. UU., podrá potenciar aún más el mejoramiento genético de la

especie en México, particularmente cuando se requiera incorporar características ausentes en el germoplasma local como podrían ser genes de resistencia a enfermedades, plagas de insectos o sequía. Un ejemplo actualizado, es la roya de la soya, enfermedad de reciente introducción en los EE. UU. y en México, y para la cual no existe resistencia en el germoplasma local.

CONCLUSIONES

Se observó reducida diversidad morfoagronómica en el germoplasma de soya analizado debido al alto grado de parentesco entre progenitores, así como al constante uso de algunos cultivares mejorados como progenitores. En contraste, el análisis genético detectó alto grado de polimorfismo en el germoplasma aunque no se observó asociación entre los patrones de variabilidad genética y morfoagronómica.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el Instituto Politécnico Nacional (IPN) (proyecto CGPI-20040311), el Programa de Soya del Campo Experimental Sur de Tamaulipas del INIFAP y por el Fondo Mixto-Gobierno del Estado de Tamaulipas (TAMPS-2003-C01-03). H. R. Gill-Langarica agradece al Instituto Politécnico Nacional (Becas PIFI e IPN Número B030906) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) (registro 195236) las becas otorgadas para realizar estudios de Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica en el CBG-IPN. N. Mayek-Pérez y V. Pecina-Quintero son becarios del Sistema Nacional de Investigadores del CONACYT-México; N. Mayek-Pérez es becario del Sistema de Becas por Exclusividad y del Programa de Estímulos al Desempeño de los Investigadores del IPN.

LITERATURA CITADA

- Akkaya, M. G.; Bhawat, A. and Cregan, P. B. 1992. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics* 132:1131-1139.
- Barriga, S. C. 1978. Soya. In: Cervantes-Santana, T. (ed.). *Análisis de los recursos genéticos disponibles a México*. Sociedad Mexicana de Citogenética. México. p. 253-255.

- Bernard, R. L.; Cremeens, C. R.; Cooper, R. L.; Collins, F. L.; Krober, O. A.; Athow, K. L.; Laviolette, F. A.; Coble, C. J. and Nelson, R. L. 1998. Evaluation of the USDA soybean germplasm collection: Maturity groups 000 to IV (FC 01.547-PI 266.807). United States Department of Agriculture. Washington, DC, USA. 215 p. (Tech. Bull. 1844).
- Chowdhury, A. K.; Srinives, P.; Tongpamnak, P.; Saksoong, P. and Chatwachirawong, P. 2002. Genetic relationship among exotic soybean introductions in Thailand: Consequence for varietal registration. *Sci. Asia* 28:227-239.
- Cui, Z.; Carter, T. E. and Burton, J. W. 2000. Genetic diversity in Chinese soybean cultivars based on coefficient of parentage. *Crop Sci.* 40:1780-1793.
- Cui, Z.; Carter, T. E.; Burton, J. W. and Wells, R. 2001. Phenotypic diversity of modern Chinese and North American soybean cultivars. *Crop Sci.* 41:1954-1967.
- Dellaporta, S. L.; Woods, T. and Hicks, J. B. 1983. A plant DNA miniprep. Version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1:19-21.
- Diwan, N. and Cregan, P. B. 1997. Automated sizing of fluorescent labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 95:723-733.
- Doldi, M. L.; Vollmann, J. and Lelley, T. 1997. Genetic diversity in soybean as determined by RAPD and microsatellite analysis. *Plant Breed.* 116:331-335.
- Gizlice, Z.; Carter, T. E. Jr. and Burton, J. W. 1994. Genetic base for North American public soybean cultivars released between 1947 and 1988. *Crop Sci.* 34:1143-1151.
- Hair, J. F. Jr.; Anderson, R. E.; Tatum, R. L. and Black, W. C. 1992. Multivariate data analysis. MacMillan Publishing. New York, N. Y., USA. 544 p.
- Hiromoto, D. M. and Vello, N. A. 1986. The genetic base of Brazilian soybean cultivars. *Braz. J. Genet.* 9:295-306.
- Hudcovicová, M. and Kraic, J. 2003. Utilization of SSRs for characterisation of the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic resources. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 39:120-126.
- Ininda, J.; Fehr, W. R.; Ciano, S. R. and Schnebly, S. R. 1996. Genetic gain in soybean populations with different percentages of plant introduction parentage. *Crop Sci.* 36:1470-1472.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 1999. Guía técnica para la producción agrícola del Sur de Tamaulipas. Campo Experimental Sur de Tamaulipas. Tampico, México. 230 p.
- Jin, Y.; He, T. H. and Lu, B. R. 2003. Fine scale genetic structure in wild soybean population (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) and the implication for conservation. *New Phytol.* 159:513-519.
- Juvik, G. A.; Bernard, R. L.; Orf, J. H.; Cavins, J. F. and Thomas, D. I. 1989. Evaluation of the USDA soybean germplasm collection: Maturity groups 000 to IV (PI 446.983 to PI 486.355). United States Department of Agriculture. Washington, DC, USA. 165 p. (Tech. Bull. 1760).
- Keim, P.; Beavis, W.; Schupp, J. and Freestone, R. 1992. Evaluation of soybean RFLP marker diversity in adapted germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 85:205-212.
- Li, Z. and Nelson, R. L. 2001. Genetic diversity among soybean accessions from three countries measured by RAPDs. *Crop Sci.* 41:1337-1347.
- Li, Z.; Qiu, L.; Thompson, J. A.; Molly, M.; Nelson, R. L. and Welsh, R. L. 2001. Molecular genetic analysis of U.S. and Chinese soybean ancestral lines. *Crop Sci.* 41:1330-1336.
- Liu, F.; Dong, F. Y.; Zou, J. J.; Chen, S. Y. and Zhuang, B. C. 2000. Soybean germplasm diversity and genetic variance detected by microsatellite markers. *Yi Chuan Xue Bao* 27:628-633.
- Maughan, P. J.; Saghai-Marooof, M. A. and Buss, G. R. 1995. Microsatellite and amplified sequence length polymorphisms in cultivated and wild soybean. *Genome* 38:715-723.
- Maughan, P. J.; Saghai-Marooof, M. A.; Buss, G. R. and Huestis, G. M. 1996. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) in soybean: Species diversity, inheritance, and near-isogenic line analysis. *Theor. Appl. Genet.* 93:392-401.
- Narvel, J. M.; Fehr, W. R.; Chu, W.; Grant, D. and Shoemaker, R. C. 2000. Simple sequence repeat diversity among soybean plant introductions and elite genotypes. *Crop Sci.* 40:1452-1458.
- Nelson, R. L.; Amdor, P. J.; Orf, J. H. and Cavins, J. F. 1988. Evaluation of the USDA soybean germplasm collection: Maturity groups 000 to IV (PI 427.136 to PI 445.845). United States Department of Agriculture. Washington, DC, USA. 244 p. (Tech. Bull. 1726).
- Nelson, R. L.; Amdor, P. J.; Orf, J. H.; Lambert, J. W.; Cavins, J. F.; Kleiman, R.; Laviolette, F. A. and Athow, K. A.

1987. Evaluation of the USDA soybean germplasm collection: Maturity groups 000 to IV (PI 273.483 to PI 427.107). United States Department of Agriculture. Washington, DC, USA. 267 p. (Tech. Bull. 1718).
- Pecina, Q. V.; Hernández, M. L.; Moreno, M. N.; Simpson, J.; Martínez, V. O. and Gil, V. K. C. 2005. Diversidad genética en soya del trópico húmedo de México determinada con marcadores AFLP. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:63-69.
- Perry, M. C. and McIntosh, M. S. 1991. Geographical patterns of variation in USDA soybean germplasm collection: I. Morphological traits. *Crop Sci.* 31:1350-1355.
- Powell, W.; Morgante, M.; Andre, C.; Hanafey, M.; Vogel, J.; Tingey, S. and Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* 2:225-238.
- Priolli, R. H. G.; Mendes-Junior, C. T.; Arantes, N. E. and Contel, E. P. B. 2002. Characterization of Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. *Genet. Mol. Biol.* 25:185-193.
- Rongwen, J.; Akkaya, M. S.; Bhahwat, A. A.; Lavi, U. and Cregan, P. B. 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theor. Appl. Genet.* 90:43-48.
- Schneider, S.; Roessli, D. and Excoffier, L. 1996. Arlequin: Software for population genetics data analysis, Version 2.0. Laboratory of Genetics and Biometry, Department of Anthropology, University of Geneva, Switzerland.
- Shoemaker, R. C.; Guffy, R. D.; Lorenzen, L. L. and Specht, J. E. 1992. Molecular mapping of soybean: Map utilization. *Crop Sci.* 32:1091-1098.
- Sistema Integral de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2006. Información agrícola nacional y por estado. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. Disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx> (Fecha de consulta: 8 de mayo de 2006).
- Skorupska, H. T.; Shoemaker, R. C.; Warner, A.; Shipe, E. R. and Bridges, W. C. 1993. Restriction fragment length polymorphism in soybean germplasm of the southern USA. *Crop Sci.* 33:1169-1176.
- Skroch, P.; Tivag, J. and Nienhaus, J. 1992. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. *In: Applications of RAPD technology to Plant Breeding. The American Society for Horticultural Science and American Genetic Association. Joint Plant Breeding Symposia Series. Crop Science Society of America. Madison, WI, USA.* p. 32-40.
- Sneller, C. H. 1994. Pedigree analysis of elite soybean lines. *Crop Sci.* 34:1515-1522.
- StatSoft. 1997. Statistica for Windows (Computer program manual). Statsoft Release 5.1. Tulsa, USA.
- Thompson, J. A.; Nelson, R. L. and Vodkin, L. O. 1998. Identification of diverse soybean germplasm using RAPD markers. *Crop Sci.* 38:1348-1355.
- Ude, G. N.; Kenworthy, W. J.; Costa, J. M.; Cregan, P. B. and Alvernaz, J. 2003. Genetic diversity of soybean cultivars from China, Japan, North America, and North American Ancestral Lines determined by amplified fragment length polymorphism. *Crop Sci.* 43:1858-1867.
- United States Department of Agriculture (USDA). 1995. Objective description of variety, [*Glycine max* (L.) Merr.]. Science and technology plant variety protection Office. Beltsville, MD, USA. 7 p.
- Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; van de Lee, T.; Hornes, M.; Frijters, A.; Pot, J.; Peleman, J.; Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic. Acids Res.* 23:4407-4414.
- Xu, D. H. and Gai, J. Y. 2003. Genetic diversity of wild and cultivated soybeans growing in China revealed by RAPD analysis. *Plant Breed.* 122:503-506.
- Zhou, X.; Carter, T. E.; Cui, Z. Jr.; Miyazaki, S. and Burton, J. W. 2000. Genetic base of Japanese soybean cultivars released during 1950 to 1988. *Crop Sci.* 40:1794-1802.