

URUGUAY

PROYECTO MARCADORES MOLECULARES

Diego Risso - URUPOV

Colombia, 2017

6th Seed Congress of the Americas

*Promoting Seed
Business in
the Americas*

*September 5-7
2017 - Colombia
Cartagena de Indias*



URUPÓV
SEMILLA LEGAL

OBJETIVOS

- El objetivo del proyecto es obtener un panel de SNP que permita identificar las variedades de soja registradas en Uruguay - Octubre 2017
- Ese panel se va a usar para las muestras de:
 - Postcontrol - semilla certificada
 - Verificación de identidad varietal - fiscalización , control de comercio
 - DHE - Disminuir la cantidad de variedades sembradas de la colección de referencia
 - Servicios externos.
- Visión INASE: Disminuir la cantidad ensayos (que insumen mucho tiempo y dinero) y acelerar el tiempo de obtención de los resultados -48 hs. vs 6 meses

METODOLOGIA DISEÑO DE PANEL DE MARCADORES

192 Genotipos



Acclaim Images.com

Extracción ADN



Genotipado por secuenciación (GBS)



Bioinformática,
alineación de secuencias

```

-330389 SRR006330.3045 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
+330414 SRR006330.1334 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
-330422 SRR006330.2510 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
-330426 SRR006330.2564 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
-330435 SRR006330.3770 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
+330440 SRR006465.7152 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
-330452 SRR006330.1830 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
-330454 SRR006330.3586 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
-330469 SRR006330.2574 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
-330480 SRR006330.7228 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
-330481 SRR006330.1749 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
+330488 SRR006330.1515 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
-330491 SRR006330.4899 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
+330500 SRR006330.4461 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
+330503 SRR006330.4193 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCGTG TCAA'
-330510 SRR006330.3278 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
-330511 SRR006330.1472 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
+330512 SRR006465.7531 ACAGG*CGGG*CACC TTGCTGGGCTGCAAA TAACTGATCTTGTCACTGGCATGGGCAA'
    
```

SELECCIÓN DE LA MATRIZ MÍNIMA

Identificación in silico de SNP que permitan discriminar las variedades (matriz de análisis)

	SNP 1	SNP 2	SNP 3	SNP x
Variedad 1	A	T	G	G
Variedad 2	A	C	A	G
Variedad 3	G	T	G	A
Variedad 4	G	C	G	G
Variedad x	A	T	G	A

Validación empírica de SNP:

Genotipado KASPTM - LGC-Genomics (Competitive Allele-Specific PCR)

Ventajas del GBS vs “CHIP” para Uruguay

- > Menor costo
- > Panel de SNP diseñado “a medida” para las variedades utilizadas en Uruguay
- > Aprovechar la experiencia generada en GBS y análisis posterior de secuencia
- > Debido a la baja demanda que hay en Uruguay, no justifica utilizar el genotipado con chip comercial como rutina, por eso se seleccionara un panel de SNP

Aplicaciones del panel de SNP

- > Gestión de la colección de referencia para exámenes DHE
- > Control del comercio -Defensa del derecho de obtentor (control de la semilla de uso propio)
- > Servicios

Avances del proyecto

- > 200 genotipos aprox. provenientes del registro de propiedad de cultivares
- > Se genotiparon por la técnica de GBS (servicio tercerizado en Canadá)
- > Se procesó la información cruda de secuencia
- > Se identificaron los SNP polimórficos y se filtraron
- > Comparación estadística de distintas matrices (en proceso)
- > Validación en “laboratorio húmedo” (próximamente)

CONCLUSIONES

- > Este tipo de herramientas nos permiten lograr identificar infracciones de manera más **rápida y económica**, dando garantías a todas las partes (INASE, Productor, Obtentor).

A su vez, permite:

- > Aplicar las sanciones en los momentos correctos (**48 hs. vs. 6 a 13 meses**)
- > Aumentar la efectividad de la acción correctiva
- > Sanciones con carácter efectivo, proporcionado y disuasorio
- > Ahorro en recursos destinados para ensayos de campo

Thank you for your attention!

