

CARACTERIZACIÓN POR RAPD DE PATRONES GENÉTICOS DE CEPAS HÍBRIDAS Y PARENTALES DE *Pleurotus* spp.

Leticia Aguilar Doroteo, Susana Santiago Téllez, ¹Gustavo Valencia del Toro, María Eugenia Garín Aguilar, Enrique Durán Páramo.

¹Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, UPIBI, Instituto Politécnico Nacional. Barrio la Laguna Ticomán, D. F., CP 07340, México. gvovaltor@yahoo.com.mx

Palabras clave: RAPD, *Pleurotus*, Neohaplontes

Introducción. La utilización del método de desdicarización química ha sido importante para la producción de cepas híbridas de setas comestibles ya que permite la generación de componentes monocarióticos que posteriormente se aparean para la obtención de híbridos (1). Sin embargo, es importante el estudio de los patrones genéticos de cepas monocarióticas y dicarióticas (parentales, neohaplontes e híbridas) utilizadas en el mejoramiento genético de setas comestibles. Con la finalidad de aportar elementos en la caracterización del germoplasma de cepas de *Pleurotus* obtenidas, el objetivo de éste trabajo fue realizar la caracterización genética de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp. mediante la técnica de RAPD's.

Metodología. A partir de dos cepas parentales de *Pleurotus* spp; POS y UAP9, se obtuvieron por desdicarización química, los neohaplontes compatibles de cada cepa (UAP9₂ y POS₁), con los cuales se llevó a cabo el apareamiento para obtener la cepa híbrida UBPO (UAP9₂xPOS₁). Se realizó el cultivo en medio líquido de las cepas monocarióticas y dicarióticas utilizando extracto de malta deproteinizado (EMD). El micelio fue filtrado y secado a 40 °C, para la extracción de ADNg se empleó el Kit de Extracción para Plantas (ChargeSwitch gDNA Plant Kit cat. CS18000 Invitrogen). Para el análisis RAPD se probaron 5 oligonucleótidos de 10 bases (Operon Technologies: OPF-13, OPG-2, OPG-3, OPH-2, OPH-3'), siguiendo el procedimiento reportado por Lee, et al., (2000) para el programa de la PCR (2). Los productos obtenidos se separaron en geles de agarosa al 1.2%, los cuales se tiñeron con GelRed 10000X soluble en agua, utilizando como referencia los marcadores de peso molecular Lambda Hind III (M1) y Ladder 1 Kpb (M2), todos los geles se corrieron a 75 Volts y se analizaron con un fotodocumentador.

Resultados y discusión. En el cuadro 1 se presentan los valores de pureza y concentración del ADNg extraído del micelio de las cepas monocarióticas y dicarióticas trabajadas, únicamente la cepa POS presentó un valor mayor a los reportado bibliográficamente como grado de pureza óptimo entre 1.8 a 2.0 (3).

Cuadro 1. Valores de pureza y concentración de ADNg para las cepas monocarióticas y dicarióticas trabajadas.

CEPAS	Pureza* Relación DO 260/280	Concentración (µg/µL)
POS	2.23± 0.02	0.49
UAP9	1.04 ± 0.01	0.245
UAP9 ₂	0.97± 0.03	0.2375
POS ₁	1.41± 0.01	0.405
UAP9 ₂ xPOS ₁	1.40 ± 0.02	0.2625

En la figura 1 se muestra la electroforesis en gel obtenida para los productos de la PCR, solo dos (OPF-13 y OPH-3') de los cinco cebadores utilizados, presentaron amplificación. Se obtuvieron fragmentos entre 0.5 y 1 kb.

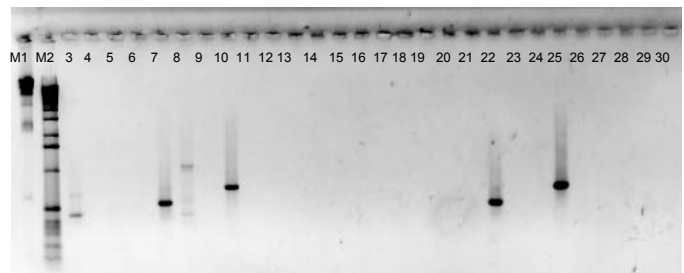


Fig. 1. Electroforesis en gel para las cepas de *Pleurotus*: Carriles del 3-5, controles, del 6-10; POS, UAP9, UAP9₂, POS₁, UAP9₂xPOS₁, con OPF-13, del 11-15 para OPG-2, del 16-20 para OPH-2, del 21-25 para OPH-3', del 26-30 para OPG-3

La cepa UAP9 y el híbrido UBPO, presentaron una banda de amplificación en ambos iniciadores y el neohaplonte UAP9₂ dos bandas.

Conclusiones. Se tienen marcadores para las cepas utilizadas, es necesario mayor número de iniciadores.

Agradecimiento. Este trabajo se realizó con el apoyo de los proyectos SIP 20091065, IPN y CONACYT 90032.

Bibliografía.

- 1.- Eger, G., Eden, G., Wissing, E. (1976). *Pleurotus ostreatus*, breeding potential of a new cultivated mushroom. Theoretical and applied genetics. 47: 155-163.
- 2.- Lee, Y-K, Ghana, H-H, Kim, L-S, Lee, K-S. (2000). Lignocellulolytic mutants of *Pleurotus ostreatus* induced by gamma-ray radiation and genetic similarities. Rad. Phys. Chem. 57: 145-150
- 3.- CIMMYT (2005). Applied Molecular Genetics Laboratory. 3a edición. México, D.F. 86 pp3.