



IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE *LENTINULA* Y *PLEUROTUS*.

Sánchez Hernández A^a, Valencia Del Toro G^a, Aguilar-Doroteo^a L., Leal-Lara H^b, Garín –Aguilar M.E^c, Villanueva Arce R^a, and Ramírez-Carrillo R^b. ^aSección de estudios de Posgrado, UPIBI, IPN., Barrio La Laguna SN, 07340 México DF. ^bDepartamento de Ciencia de los Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, Cd. Universitaria, 04510 Mexico D.F. ^cFacultad de Iztacala, UNAM, Tlalnepantla Edo. México. saha_tm@hotmail.com, gvalencia@ipn.mx

Palabras clave: Basidiomicetos, región ITS, filogenia.

Introducción. Estudios moleculares de los géneros *Lentinula* y *Pleurotus* han permitido la identificación de las especies de estos géneros, así como describir la relación que guardan las especies de hongos comestibles (1).

La región del ADN ribosomal (rADN) denominada en inglés como Internal Transcribed Spacer region (ITS) es altamente polimórfica y ha sido usada ampliamente en estudios taxonómicos y filogenéticos en hongos permitiendo la ubicación en diferentes taxones. Dicha región consiste de dos segmentos variables localizados dentro del rADN, entre las subunidades 18S rADN, 5.8S rADN, y 28S rADN que son altamente conservadas (2).

Metodología. Se realizó la extracción de ADNg de 7 cepas de Basidiomycetos comestibles con “ChargeSwitch® ADN g plant Kit”. La región ITS1-5.8-ITS2 fue amplificada utilizando los primers ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') producidos en el Instituto de Biotecnología (IBT) de la UNAM. La mezcla de reacción de PCR incluyó: 43 µL PCR Super Mix, 1 µL de ITS1, 1 µL de ITS4 y 5 µL de ADN. Las condiciones de reacción fueron las siguientes: 94°C por 5 min y 55 ciclos que consistieron de: a) 1 min a 94°C, b) 30 s a 49°C a 60°C y c) 1 min a 72°C enlazados por 5 min a 72°C y concluyendo con la fase de reposo a 4°C. La presencia de los productos de PCR fue verificada por electroforesis en gel de agarosa al 0.8%. Los productos de PCR fueron secuenciados en el IBT de la UNAM.

La identificación molecular se realizó analizando las secuencias obtenidas por medio de BLAST en el NCBI. El análisis filogenético se efectuó por medio de un árbol filogenético, con el método estadístico de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura 3-parameter model + I con el programa Mega 6.

Resultados. Para todas las cepas la región ITS1-5.8-ITS2 fue amplificada, obteniendo una banda entre 700 y 800 pb. La identificación molecular se muestra en la Tabla 1, las cepas de *Lentinula* pertenecen a la especie *edodes*, para el género *Pleurotus*, se identificaron dos especies, *ostreatus* con tres cepas y *eryngii* con una cepa.

Tabla 1. Identificación molecular por medio de BLAST

Cepa	Descripción	Identidqd	Acceso
Trompeta real	<i>Pleurotus eryngii</i>	99%	JX429942.1
L5	<i>Lentinula edodes</i>	99%	KF692084.1
L9	<i>Lentinula edodes</i>	99%	JX205093.1
L15	<i>Lentinula edodes</i>	99%	JX205093.1
PAsp14	<i>Pleurotus ostreatus</i>	100%	KC686866.1
PCM	<i>Pleurotus ostreatus</i>	99%	EU520110.1
POS	<i>Pleurotus ostreatus</i>	99%	EU520110.1

En el árbol filogenético (Figura 1) se muestra de tres grupos interesétils, separando claramente al género *Lentinula* del género *Pleurotus*.

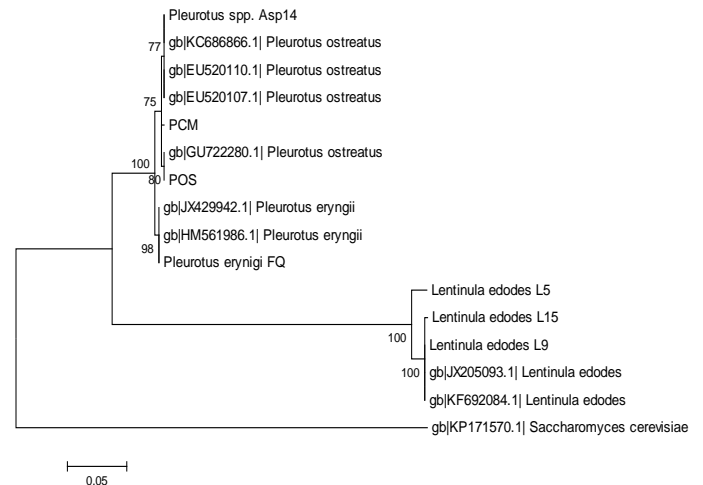


Figura 1. Árbol filogenético, con el método estadístico de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura 3-parameter model + I con el programa Mega 6.

Conclusiones. La amplificación de la región ITS1-5.8-ITS2 permitió la identificación molecular de las cepas, ubicándolas en dos géneros.

Agradecimiento. Proyecto IPN-SIP: 20151514, ICyTDF 200/2012 (PICSO12-096).

Bibliografía.

- (1) Calvo-Bado L. Sistemática del género *Pleurotus* con énfasis en las especies cultivadas. En: La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Sánchez, V.J.E., Royse, D.J. (eds.). ECOSUR y UTEHA, Noriega Editores
- (2) Labarere, J., Bois, F. 2002. La conservación y el uso de los recursos genéticos de *Pleurotus* spp. En: La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Sánchez, V.J.E., Royse, D.J. (eds.). ECOSUR y UTEHA, Noriega Editores