



EVALUACIÓN DE MARCADORES ISSR PARA DIFERENCIAR CULTIVARES CRIOLLOS Y MEJORADOS DE FRIJOL NEGRO EN EL TROPICO HUMEDO

Luz del C. Lagunes-Espinoza, Abel Vidal Barahona, Evangelina Valadez-Moctezuma y Carlos Fredy Ortiz García. Colegio de Postgraduados. Campus Tabasco. Periférico Carlos A. Molina s/n, km. 3.5 carr. Cárdenas-Huimanguillo, CP. 86500 H. Cárdenas, Tabasco. Fax: (937) 37.2.22.97, Correo electrónico: lagunes@colpos.mx

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, diversidad, ISSR

Introducción. En frijol, la base genética de la mayoría de los cultivares dentro de una misma clase de mercado es reducida, ya que solo una pequeña fracción de las poblaciones silvestres fueron domesticadas (Gepts *et al.*, 1986), por ello el estudio de la diversidad genética intra-clase requiere de marcadores genéticos sumamente eficientes. La utilización de las Inter Secuencias Simples Repetidas (ISSR) para diferenciar grupos varietales en frijol mexicano fue demostrada por Rosales *et al.* (2003). Pocos estudios han sido realizados en frijol para determinar la diversidad genética a nivel de poblaciones locales o regionales (González *et al.*, 2005).

El objetivo de este estudio es caracterizar la diversidad genética presente entre variedades mejoradas de frijol negro y de variedades criollas colectadas en la región de la Chontalpa, Tabasco mediante marcadores ISSR.

Metodología. 22 genotipos de frijol negro que incluyeron 8 cultivares criollos colectados en la región de la Chontalpa fueron evaluados. El DNA fue extraído por el método de CTBA. Cuatro iniciadores ISSR fueron seleccionados por amplificar el mayor número de bandas, mostrar mejor definición y reproducibilidad: (GA) 8YC, (AC) 8YG, (TCC) 5RY y Micro Anch 6, de un total de 14. Los cuatro iniciadores fueron corridos con el grupo completo de genotipos en estudio. La amplificación se realizó en un volumen final de 25 μ L más 25 μ L de aceite mineral para evitar la evaporación de la muestra. La mezcla de reacción que se utilizó fue la siguiente: 20 mM Tris-HCl (pH 8.0 a 25°C) 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% glycerol, 0.5% Tween 20 y 0.5% Nonidet-P40, 200 μ M de dNTPs, 3mM MgCl₂, 30 ng de iniciador, 1.5 ng de Taq polimerasa, y 50 ng de DNA. La amplificación fue efectuada según Alanis (2003). La separación de los productos amplificados, se realizó en gel de agarosa al 1.4% con TBE 1X. La detección de productos se realizó con tinción de bromuro de etidio. La imagen se documentó con una cámara Kodak Digital Science 1D 2.0. El paquete estadístico NTSYS® (Rohlf, 1993) se utilizó para generar el dendrograma, a través de un análisis de conglomerados de agrupación jerárquica (SAHN) usando el método de ligamiento promedio (UPGMA). Los índices de similaridad fueron calculados usando el coeficiente de Dice.

Resultados y discusión. Cada iniciador ISSR amplificó entre 35 y 47 bandas. Un total de 163 bandas fueron obtenidas para los 4 iniciadores ISSR con 134 fragmentos polimórficos (85 %), lo que demuestra que las ISSR pueden detectar variabilidad genética aún en especies donde la diversidad es baja (Rosales *et al.*, 2003; González *et al.*, 2005). El iniciador Micro Anch 6 generó 47 bandas de las cuales 38 (81 %) fueron polimórficas. El tamaño de las bandas amplificadas por los iniciadores ISSR varió de 506 a 1636 pares de bases.

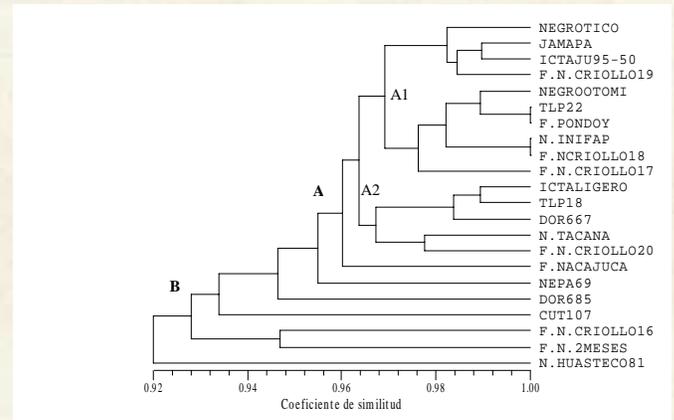


Figura 1. Dendrograma de las relaciones genéticas entre 22 genotipos de frijol negro mediante el uso de UPGMA.

Este dendrograma agrupó a los genotipos evaluados en 2 grupos. El grupo A fue el más homogéneo. Los genotipos criollos se intercalaron en los diferentes subgrupos formados mostrando su similitud con los genotipos mejorados. Los criollos que mostraron mayor distancia genética con el grupo de mejorados fueron el frijol negro "2 meses", genotipo precoz y el negro "criollo 16", colectado en el municipio de Jalpa de Méndez. La variedad mejorada N. Huasteco 81 fue la más distante del grupo de genotipos evaluados.

Agradecimientos: Estudio financiado por Fondos Mixtos CONACTY-TABASCO Proyecto TAB-2003-C03-11645.

Bibliografía:

- Alanis, M.E.I. (2003). Variabilidad de cuatro formas especiales de *Fusarium oxysporum* Schlechtend emed. Snyder & Hans. mediante las técnicas moleculares: RAPD, MP-PCR y RAMPnr. Tesis profesional de licenciatura. Departamento de Parasitología agrícola. Universidad Autónoma Chapingo, México. 88 p.
- Gepts, P., Osborn, T.C., Rashka, K. y Bliss, F.A. (1986). Phaseolin protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.* 40:451-468.
- González, A., Wong, A., Delgado-Salinas, A., Papa, R y Gepts, P. (2005). Assessment of Inter Simple Sequence Repeat Markers to Differentiate Sympatric Wild and Domesticated Populations of common bean. *Crop Sci.* 45:606-615.
- Rohlf, J.F. (1993). NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system (Ver. 2.02i). Exeter Publisher Ptd. Setauket. New York. USA.
- Rosales, S. R., Acosta-Gallegos, J.A., Durán, D. R.P., Guillén, A. H., Pérez, H. P., Esquivel, E. G. y Muruaga, M.J. S. (2003). Diversidad genética del germoplasma mejorado de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. *Agricultura Técnica en México.* 29(1):11-24.