



“OBTENCIÓN DE LA HUELLA GENÉTICA DE AGAVES MEZCALEROS DE SAN LUIS POTOSÍ POR RAPD Y AFLP”

José Pablo Lara-Ávila, Verónica Zárate-Chávez, Rosalba Castillo-Collazo, Ángel Gabriel Alpuche-Solís, IPICYT, A.C. Camino a la Presa de San José 2055, Col. Lomas 4ª Sección, C.P. 78216, S.L.P., Fax (444)8342010, alpuche@ipicyt.edu.mx

Palabras clave: *A. salmiana*, marcadores moleculares, micropropagación.

Introducción. Los estudios de huella genética dan información acerca de la biodiversidad de una especie, y es posible inferir sobre su uso o explotación a lo largo del tiempo. Por otro lado, el contar con un banco de germoplasma *in vitro* tiene un impacto ecológico que asegura la conservación de las especies en estudio. En el Altiplano Potosino, *Agave salmiana* es utilizada para la producción de mezcal. La industria mezcalera carece de un sistema de calidad con bajos rendimientos de producción. Los marcadores moleculares RAPD y AFLP basados en PCR no requieren un conocimiento previo de la especie a estudiar, se pueden aplicar a cualquier especie y permiten el estudio del genoma completo, lo que revela un mayor polimorfismo que otros marcadores (1, 2).

El objetivo del presente trabajo es la caracterización de *A. salmiana* de diferentes regiones de San Luis Potosí, por medio de marcadores moleculares RAPD y AFLP, con fines de registro y la obtención de datos de diversidad genética de esta especie.

Metodología. Se colectaron plantas de *A. salmiana* de un predio de Ipiña, Aqualulco, (IP) y de dos predios de Charcas, (EC y LS), en S.L.P. Dentro de las muestras de Ipiña se colectaron variantes fenotípicas conocidas en la localidad como chino, liso y blanco. Se probaron diferentes medios de cultivo para iniciar la micropropagación de las plantas colectadas. Así como varios métodos para la extracción de DNA. Se utilizaron 40 oligos para los análisis RAPD y 5 combinaciones de oligos+3 para AFLP, se realizó la tinción de plata para los geles de AFLP y se generó una matriz binaria con el programa Crosschecker para cada combinación. Se seleccionaron aquellos oligos para RAPD y AFLP que reflejaron un mayor polimorfismo, los análisis estadísticos se están realizando con los programas Arlequín, TPFGA y STATISTICAL.

Resultados y discusión. Se seleccionó el medio MS+BA(3mg/L)+IAA(0.5mg/L) por ser el más efectivo para la obtención de brotes múltiples a partir del meristemo central. Para la extracción del DNA se eligió un protocolo basado en CTAB (0.8%) y LS (1%), dando una mayor cantidad de DNA extraído. Para RAPD se seleccionó el oligo OPA16 que logró generar mayor polimorfismo entre las muestras de *A. salmiana* probadas.

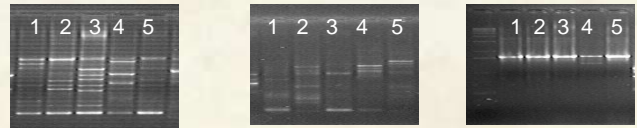


Fig.1 Patrones de RAPD generados con los oligos OPA16, OPF8 y OPF1, de izquierda a derecha, en *A. salmiana* de diferente región (1 y 2 de EC; 3 de IP, 4 de LS) y *A. scabra* (5).

Para AFLP la combinación de oligos +3 seleccionada fue E-ACA y M-CTG que produjo 686 bandas, logrando la separación de *A. potatorum* de muestras de *A. salmiana* de diferentes regiones en un dendrograma generado por STATISTICAL.

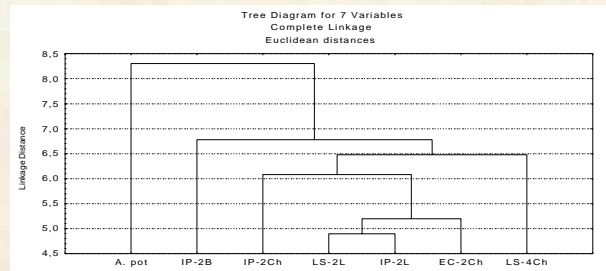


Fig.2 Dendrograma de AFLP generado por la combinación E-ACA y M-CTG de muestras de *A. salmiana* de diferente región y de *A. potatorum* (*A. pot*).

Conclusiones. El cultivo *in vitro* de *A. salmiana* permitirá la creación de un banco de germoplasma que asegurará su conservación en el futuro. Se obtuvieron varias bandas polimórficas con RAPD, sin embargo los dendrogramas generados no separaron las especies como se esperaba, por otro lado el análisis de AFLP agrupó a los *A. salmiana* separándolos de otro agave mezcalero, *A. potatorum*, aunque no se realiza un agrupamiento por regiones dentro de *A. salmiana*. Los análisis de genética de poblaciones revelarán la variabilidad genética dentro de cada población.

Agradecimiento. A CONACYT por la beca otorgada para los estudios de maestría y a la División de Biología Molecular por el financiamiento para este trabajo.

Bibliografía

- Vos, P, Hogers, R, Bleeker, M, Reinjans, M, Van de Lee, T, Hornes, M, Frijters, A, Pot, J, Peleman, J, Kuiper, M y Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.
- Williams, JGK, Kubelik, AR, Livak, KJ, Rafalski, JA y Tingey, SV. (1990). DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.