



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



#

OBTENCIÓN Y COMPARACIÓN DE CARIOTIPOS EN HÍBRIDOS ASIÁTICOS DEL GÉNERO *Lilium* MEDIANTE HIBRIDACIÓN *in situ* DE SECUENCIAS GENÓMICAS

María Laura Mendoza Villaseñor, Rodrigo Barba-González*.

*Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.
Av. Normalistas # 800, Colinas de la Normal. CP. 44270 Guadalajara, Jalisco.

rbarba@ciatej.net.mx

Palabras clave: *Lilium*, cariotipo, hibridación *in situ*

Introducción. Se realizó un estudio utilizando técnicas avanzadas de hibridación *in situ* utilizadas anteriormente en otras especies (1,2,3,4) para la obtención de cariotipos y patrones de bandeado en el genoma de híbridos asiáticos del género *Lilium*. Se utilizan sondas de secuencias altamente conservadas las cuales se usan para detectar la ubicación de estas secuencias dentro de un cariotipo dado en híbridos asiáticos del género *Lilium*. Así se logró obtener patrones de bandeado para los cariotipos dentro de este grupo. Este tipo de técnicas pueden asistir en el futuro para estudios filogenéticos y ser herramientas de asistencia en el mejoramiento genético para la obtención de mejores cultivares.

Metodología. Se trabajó con híbridos asiáticos del género *Lilium*, utilizando las sondas 5S y 5,8S ribosomales, obtenidos del mismo género. Las sondas fueron clonadas dentro del plásmido pGem en *Escherichia coli*. Una vez obtenidas tanto las sondas como las raíces preparadas tipo squash en placas de vidrio, se procede a la hibridación *in situ*, donde los pasos generales incluyen el etiquetado de la sonda, la desnaturalización de los cromosomas en la preparación squash, hibridación, detección y finalmente el análisis de imágenes con fluorescencia. (5)

Resultados. Se obtuvieron varios sitios de hibridación en los cromosomas de híbridos asiáticos del género *Lilium*, donde estos son observados con mayor claridad en el cultivar 'Detroit' y 'Nello', y no tanto así en el cultivar 'Navona'.

Fue posible en 'Navona' observar las hibridaciones más no así, con suficiente claridad, su ubicación dentro de los cromosomas.

En 'Detroit' y 'Nello' fue posible visualizar los sitios de hibridación con claridad. En ambos cultivares, se presentaron 1 o 2 hibridaciones por nivel de ploidía en el caso de la sonda 5S, mientras que también, en ambos cultivares, se presentaron 3 o 4 hibridaciones por nivel de ploidía en el caso de la sonda 5,8S. Además, en el caso de una de las fotografías obtenidas del cultivar 'Detroit', al eliminar la fluorescencia para DAPI, fue posible observar para la sonda 5,8S, que además de las hibridaciones intensas (3 o 4 por nivel de ploidía) que

proveyó la sonda, fue posible ver 2 o 3 hibridaciones suaves adicionales (por nivel de ploidía) a las intensas.

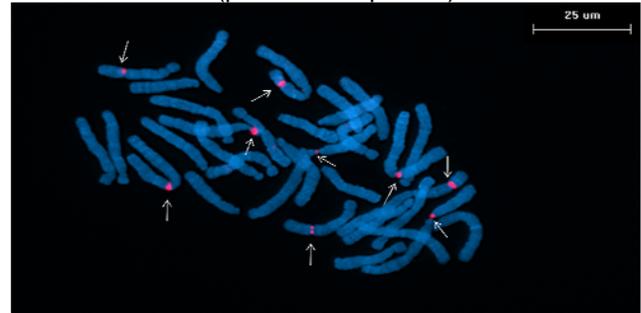


Fig. 1. Hibridación *in situ* del genoma del híbrido asiático 'Detroit'. Se pueden observar los sitios de hibridación de la sonda 5,8S.

Conclusiones. Se observó que para en todos los híbridos asiáticos se presentaron 1 o 2 hibridaciones por nivel de ploidía para la sonda 5S, y 3 o 4 para la sonda 5,8S. Llama la atención de forma especial las hibridaciones suaves que se observaron en los cromosomas, porque pueden ser indicativos de la presencia de clústeres con menor cantidad de copias de secuencias altamente conservadas en los cromosomas.

Agradecimiento. Proyecto financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. México. Proyecto 61669.

Bibliografía.

1. De Jeu, M. J., Lasschuit, J., Kuipers, A. G. J., Kamstra, S. A., Visser, R. G. F. (1997). *Theor Appl Genet* 94, 982-990. Apellido e Inicial del nombre de cada coautor, separados por comas. (Año). *Abreviatura de la revista en letra cursiva*. vol (num): pág-pág.##
2. Gerlach, W. L., Peacock, W. J. (1980). *Heredity*, 44, 8.##
3. Hizume, M., Shibata, F., Matsusaki, Y., & Garajova, Z. (2002). *Theor Appl Genet*, 105, 491-497.
4. Lim, K.-B., Wennekes, J., De Jong, H., Jacobsen, E., Van Tuyl, J. M. (2001). *Genome*, 44, 911-918.
5. Mizuochi, H., Marasek, A., & Okazaki, K. (2007). Molecular cloning of *Tulipa fosteriana* rDNA and subsequent FISH analysis yields cytogenetic organization of 5S rDNA and 45S rDNA in *T. gesneriana* and *T. fosteriana* (Vol. 155): *Euphytica*.
6. Schwarzacher, T., Heslop-Harrison, P. (2000). The *in situ* hybridization experiment. En: *Practical in situ Hybridization*. Kingston, F. BIOS Scientific Publishers Limited, Estados Unidos. País de edición, pág. 1-11.##