



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



OBTENCIÓN DE HUELLAS GENÉTICAS DE PINOS SOBRESALIENTES DE LAS ESPECIES MADERABLES *Pinus arizonica*, *P. durangensis* Y *P. engelmannii*

Luis Ernesto Velarde-Parra, Quintín Rascón-Cruz, Guadalupe Virginia Nevárez-Moorillón, Carlos Morales-Nieto, Sigifredo Arévalo-Gallegos. Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas, Circuito No. 1 Nuevo Campus Universitario, Chihuahua, Chih. México C.P. 31125. Tel.: 2366000. *p239660@uach.mx.

Palabras clave: pinos, variabilidad, SRAP.

Introducción. Actualmente existe un grave problema de deforestación en los bosques de pinos en los estados de Durango y Chihuahua, cubiertos principalmente por *Pinus arizonica*, *P. durangensis* y *P. engelmannii*, de no resolverse, las condiciones económicas, sociales y ambientales, se agravarán⁽¹⁾. A fin de contrarrestar estos negativos efectos, se han tomado medidas para rehabilitar las zonas afectadas a través de la reforestación; no obstante, estos esfuerzos han resultado insuficientes por diferentes motivos, uno de ellos es que la cantidad de plantas utilizadas es baja y la mayoría de ellas no sobrevive ante las diversas condiciones de estrés ambiental que se presenta en la sierra. Por esta razón, es necesario implementar programas que permitan aumentar masivamente la producción de plantas y seleccionar aquellas con características superiores capaces de alcanzar su etapa adulta aún en condiciones adversas; sin embargo, existe el inconveniente de que las especies e individuos de interés no han sido caracterizados genéticamente, requisito indispensable para realizar Selección Asistida por Marcadores (MAS)⁽²⁾. Un estudio de variabilidad genética sería el primer paso para el establecimiento de un efectivo programa de mejoramiento genético para las especies de pinos de interés.

El objetivo del presente trabajo es buscar marcadores genéticos para diferenciar las especies maderables *Pinus arizonica*, *P. durangensis* y *P. engelmannii*.

Metodología. Los materiales vegetativos se recolectaron de pinos élite de las tres especies maderables en la sierra de Chihuahua y Durango. La extracción del DNA genómico de cada especie se realizó de acuerdo al método de sarcosina, con ayuda de N₂ líquido para lisar las células. Los perfiles genéticos se obtendrán por el método de SRAP-PCR, el cual ha sido utilizado exitosamente en otras especies de pinos⁽³⁾. Los patrones de bandeos se convertirán en matrices binarias para obtener las similitudes genéticas entre individuos y especies, y los agrupamientos genéticos mediante el método UPGMA.

Resultados. Las características del material vegetativo de pinos, sobre todo el material fibroso, ocasiona problemas de rendimiento y calidad en los DNAs genómicos, por ello se probaron tres métodos de lisis y/o extracción: molienda directa en homogeneizador;

molienda en mortero a -20°C; y molienda en mortero con N₂ líquido. En el primer método el rendimiento fue muy bajo, con el segundo se presentaron problemas de degradación, y con el tercero se obtuvieron muestras satisfactorias tanto en calidad como en cantidad. Se han probado cantidades de 0.2, 1.0 y 2.0 g de material vegetativo inicial y encontramos que en el primer caso se obtiene una cantidad suficiente de DNA y de buena calidad, y que al aumentar la cantidad de muestra se provoca aumento en los tiempos de lisis, e incluso incrementa la degradación por lo tanto se decidió por el uso de 0.2 g.

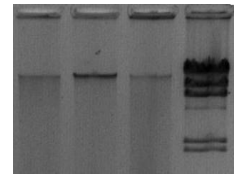


Fig. 1. Muestras de DNA extraído de *Pinus arizonica*. En el primer carril se muestra DNA con rastros de degradación producto de la técnica de molienda sólo con mortero. En el segundo carril se aprecia el DNA extraído con mortero y N₂ líquido.

Contamos con DNAs de pinos sobresalientes de cada una de las especies y estamos trabajando en la selección de los juegos de iniciadores que presenten los patrones genéticos con mayor polimorfismo, los cuales serán utilizados para identificar marcadores genéticos que diferencien entre especies así como entre individuos de nuestra colección de muestras biológicas de pinos sobresalientes

Conclusiones. Para la extracción de DNA de material vegetativo fibroso es recomendable comparar diferentes métodos de lisis y extracción. Para el caso de pinos, el material de una espícula promedio (200 mg) es suficiente para producir la cantidad apropiada de DNA para varias rondas de amplificación, aunado a ello no alarga los tiempos de lisis, favoreciendo la extracción simultánea cuando se tiene un número considerable de muestras.

Agradecimiento. A CONACYT por beca otorgada (LEVP) así como a la UACH y a INIFAP Chihuahua por su apoyo en el desarrollo del proyecto.

Bibliografía.

1. Escárpita A. (2002). Madera y Bosques. 8 (1):3-18
- 2 Winter P., Kahl G. (1995). World Microbiol. Biotechnol. 11, 438-448.
- 3.Feng F., Chen M., Zhang D., Sui X., Han S. (2009). African Journal of Biotechnology Vol. 8 (6), pp. 1000-1008