

¹Diego Armando Parra Valdes, ²Flor Cristina Pacheco Reyes, ³Lihua Wei, ⁴Rosalinda Mendóza Villareal, ⁵Miguel Ángel Pérez Rodríguez*

¹Programa de Ingeniero en Biotecnología-UAAAN, ²Programa de Posgrado REFIZA-UAAAN, ³Centro de Biotecnología genómica-IPN, ⁴Depto. de Horticultura-UAAAN, ⁵Depto. de Botánica UAAAN.

miguel_cbq@hotmail.com

Introducción

La familia *Cactaceae* es originaria del continente americano, consta de aproximadamente 4,000 especies. México cuenta con un total de 675 especies, de las cuales el 84% son endémicas, el estado de Coahuila cuenta con unas 130 especies de cactáceas (Villavicencio, *et al.*, 2010). Representa un gran reto el estudio de la diversidad biológica, conservación de la especie e identificación debido a que son un grupo de especies estrechamente emparentadas (Mauseth, Kiesling & Ostolaza, 2002).

El uso de herramientas genéticas, concretamente el uso de secuencias de fragmentos de ADN estandarizados ha demostrado ser potencialmente útil en la identificación de especies. Para ello se utilizan regiones de ADN que consisten en secuencias cortas que son utilizadas como etiquetas para la identificación rápida de especies las cuales son conocidas como "Código de Barras de ADN" (W. John Kress, *et al.* 2015).

En el presente trabajo se utilizó el marcador *rbcL* para identificar especies de la familia *Cactaceae*, la región *rbcL* ha sido utilizada ampliamente presentando varias ventajas como: fácil de amplificar, secuenciar y alinear.

Objetivos

Caracterización y análisis de especies *Cactaceae* mediante el uso del marcador *rbcL* y su variabilidad en el Código de Barras de ADN.

Materiales y Métodos



Colecta en campo.

Colectas ubicados en la región sureste del estado de Coahuila, México. Se colectaron 3 g. de tejido de brotes jóvenes que fueron preservados en alcohol de 96°. se seleccionaron tres ejemplares por especie para el análisis genético.

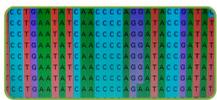


Extracción de ADN genómico.

Mediante el método modificado de CTAB se extrajo el ADN, verificando por electroforesis en gel de agarosa al 0.8%.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Usando cebadores *rbcL*, GoTaq Green Master Mix, 2XTM (Promega, USA), purificados con Wizard SV Gel and PCR Clean Up SystemTM (Promega, USA).



Secuenciación y análisis.

Los productos de PCR se enviaron 300 ng de cada muestra al servicio de secuenciación PlateSeq Service (EurofinsTM, USA).

Las secuencias fueron delimitadas y alineadas a través de Mega X y U GENE, midiendo las distancias génicas por el método k2P para la construcción del árbol filogenético basados en la unión de vecinos cercanos sobre las secuencias *rbcL*.



Figura 1. Especies de la familia *Cactaceae* colectas en campo: A) *Ferocactus hamathacanthus*, B) *Mammillaria chionocephala*, C) *Mammillaria heyderi*, D) *Sclerocactus scherii*.

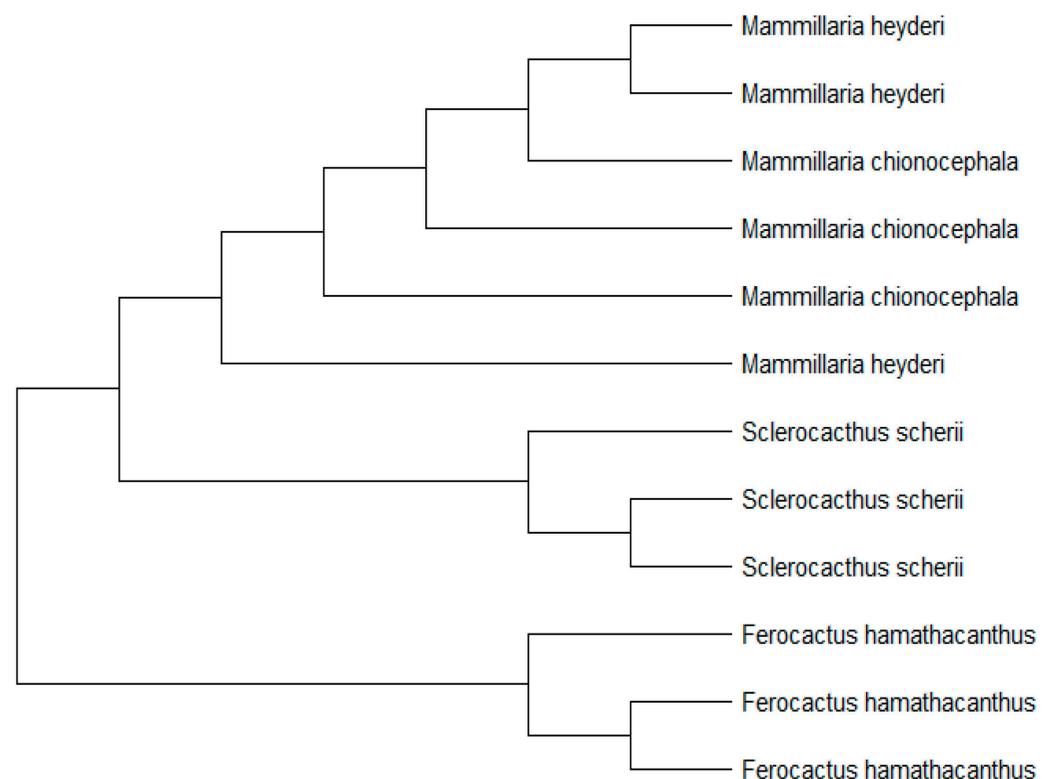


Figura 2. Dendrograma de especies *Cactaceae* a partir de un análisis de vecinos cercanos usando la región *rbcL* y con base en la distancia genética K2P.

Conclusiones

En este estudio el uso del marcador *rbcL* permitió la caracterización molecular en las especies de cactáceas estudiadas y con base en los análisis bioinformáticos se obtuvieron altos porcentajes de identificación con las secuencias generadas en este estudio.

Resultados y Discusión

Se logró la extracción de ADN de las muestras analizadas. Así mismo, la amplificación con cebadores *rbcL* logró una tasa de éxito del 100%. Por otro lado, el porcentaje de recuperabilidad de secuencias fue del 93%.

El método de BLAST generó diferentes porcentajes de identificación a nivel género y especie. *Ferocactus* logró una identificación del 99.88%, mientras que *Mammillaria* generó una identificación del 100% siendo ambos a nivel de género, por otro lado *Sclerocactus* logro una identificación del 100% a nivel de especie, utilizando el marcador *rbcL*.

Referencias

- Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., & Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews*, 90(1), 157-166.
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., ... & Barrett, S. C. (2008). Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *PLoS one*, 3(7), e2802.
- Pacheco-Reyes, F. C., Wei, L., & Perez-Rodriguez, M. A. (2021). Análisis filogenético de especies de *Quercus* L. utilizando tres códigos de barras de ADN: Filogenia en especies del género *Quercus* L. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(2).