

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES DE *Quercus* (L.) MEDIANTE EL USO DEL CÓDIGO DE BARRAS DE ADN ITS2.



Francisco Javier Hernández-Hernández¹, Flor Cristina Pacheco-Reyes², Juan Antonio Encina-Domínguez³, José Ángel Villareal-Quintanilla⁴, Miguel Ángel Pérez-Rodríguez^{4*}.
¹Programa de Ingeniero en Biotecnología-UAAAN, ²Programa de Posgrado REFIZA-UAAAN, ³Depto de Recursos Naturales-UAAAN, ⁴Depto. de Botánica UAAAN.
miguel_cbg@hotmail.com



Introducción

El estado de Coahuila presenta una orografía diversa, esta condición permite que exista una gran diversidad de comunidades vegetales (González-Medrano, 2012). En los sistemas montañosos de este estado se distribuye la familia Fagaceae, con especies que destacan por su gran diversificación, ecología y alto valor económico (Nixon, 2006). El género *Quercus* es un miembro de la familia *Fagaceae*, dentro del cual se reconocen dos subgéneros de acuerdo a la clasificación actual; *Cyclobalanopsis* y *Quercus* (Nixon, 1993). Este último comprende cuatro secciones: encinos blancos (sección *Quercus*), encinos rojos (sección *Lobatae*), encinos intermedios o dorados (sección *Protobalanus*) y la sección *Cerris* (Nixon 1993, 2006; Manos y Stanford, 2001). La aplicación de los códigos de barras de ADN, se apoya en que, la variación dentro de las especies es menor con respecto a la variación existente entre estas. Su uso implica elegir uno o algunos loci estándar que puedan secuenciarse de forma rutinaria y confiable en conjuntos de muestras grandes y diversos, lo que resulta en datos fácilmente comparables que permiten la identificación de especies (Herbert PDN, et al. 2003). La región ITS2 que forma parte del espaciador transcrito interno se ha utilizado ampliamente como marcador taxonómico molecular, esta región tiene ventajas definidas debido a que es más corta (400 pb), son fácilmente amplificables usando un par de cebadores universales y con alta capacidad discriminatoria (Han et al. 2013). Chen et al. (2010) validaron la región ITS2 como un poderoso marcador de códigos, demostraron una alta tasa de identificación a nivel de especie y género.

Objetivos

Caracterizar molecularmente especies del género *Quercus*, para probar el poder discriminatorio de la región ITS2 en estas especies.

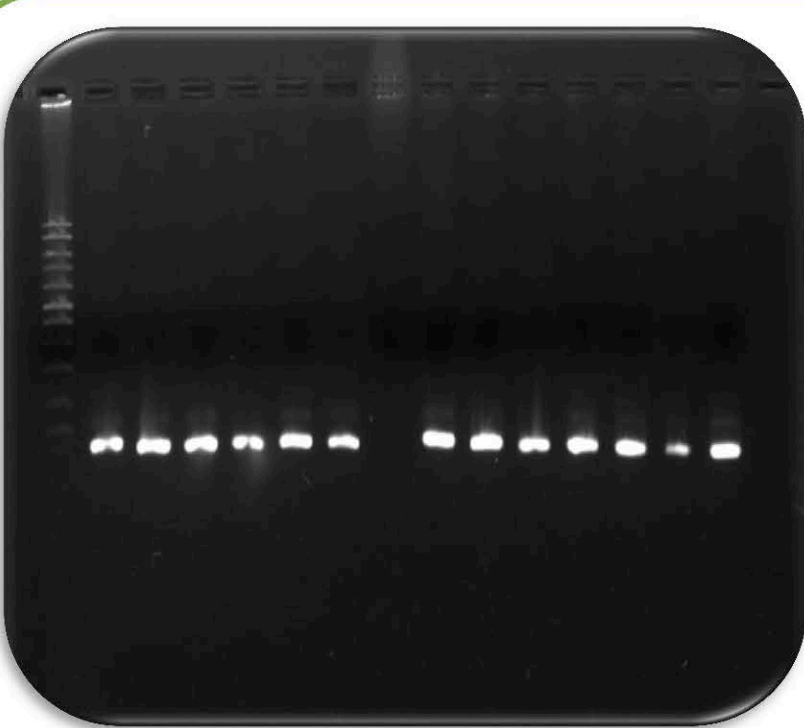
Materiales y Métodos



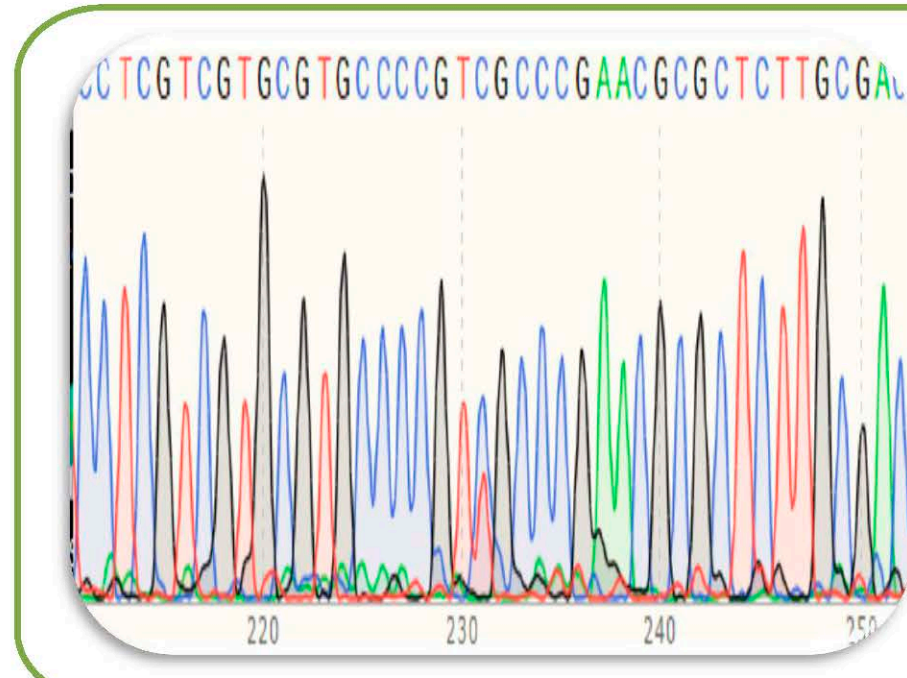
Colecta e identificación de especies en la región sureste del estado de Coahuila. Conservando el tejido colectado en alcohol de 96°.



Extracción de ADN genómico mediante del método modificado de CTAB para 14 muestras de *Quercus*



Visualización de productos de reacción en cadena de la polimerasa usando cebadores ITS2.



Visualización y recorte de electroferogramas de 8 diferentes especies para alineamiento, mediante la herramienta bioinformática MEGA X.

Resultados y Discusión

Colecta en campo. En las localidades de la Sierra Zapalinamé y el Jardín Botánico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro del estado de Coahuila, México, se colectaron 14 especies del género *Quercus* (Figura 1). La amplificación resultó mejor en los tratamientos 1 y 2. (Tabla 1). Los resultados indican que, el método de BLAST proporcionó un alto porcentaje de identificación a nivel de género (98.88%). Mientras que el análisis de unión de vecinos cercanos mostró un porcentaje de discriminación del 100% de acuerdo a las secciones analizadas (*Quercus* y *Lobatae*). La Figura 2 muestra la topología del dendrograma generado, en el cual, se observa la separación de clados monofiléticos acorde a las especies analizadas.



Figura 1. Fotografías de especies colectadas en campo, (a) *Quercus greggii*, (b) *Quercus rubra*

Tratamiento	T1	T2	T3
Extracción	92.85%	85.71%	92.85%
Amplificación	92.85%	92.85%	71.42%

Tabla 1. Porcentajes de extracción y amplificación en tres tratamientos analizados

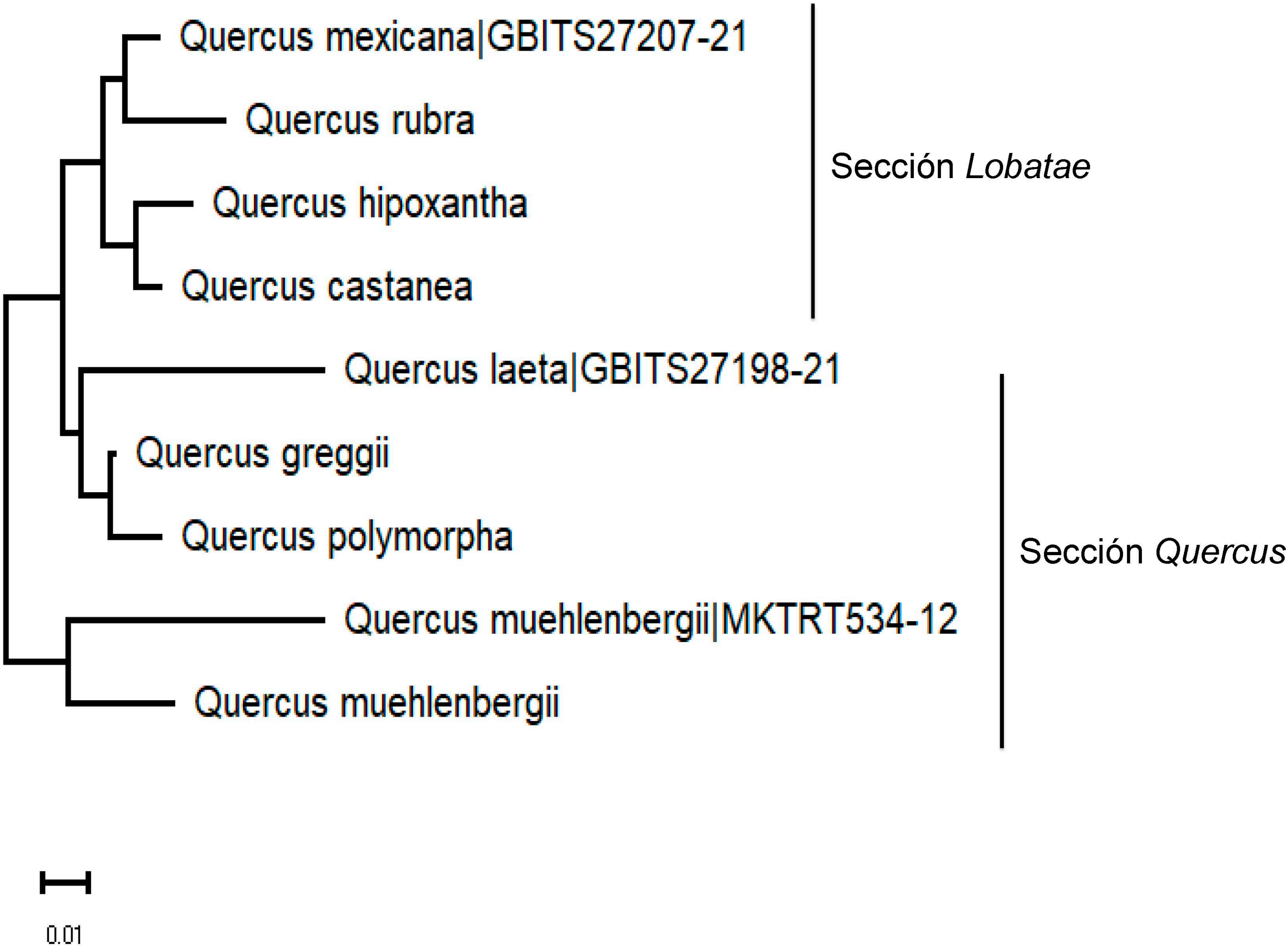


Figura 2. Cladograma para nueve secuencias de especies *Quercus* a partir de un análisis de vecinos cercanos usando la región nuclear ITS2 y con base en la distancia genética K2P

Conclusiones

El uso de cebadores ITS2 mostró altas de amplificación y recuperabilidad de secuencias en las especies de encinos analizadas. Con base en el análisis de unión de vecinos cercanos, el uso de dicha región como código de barras de ADN mostró una alta eficiencia en la identificación de especies de *Quercus*. Sin embargo, es necesario contribuir a la ampliación de las bases de datos moleculares con especies del taxón en cuestión para lograr así, una identificación de especímenes más rápida y certera con cualquier método de análisis propuesto.

Referencias

- González Medrano, F. (2012). Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Nixon, K. C. (2006). Global and neotropical distribution and diversity of oak (genus *Quercus*) and oak forests. In Ecology and conservation of neotropical montane oak forests (pp. 3-13). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Manos, P. S. and A. M. Stanford. 2001. The historical biogeography of Fagaceae: Tracking the tertiary history of temperate and subtropical forest of the northern hemisphere. International Journal of Plant Sciences 162:77-93.