

ISBN 970-27-1045-6

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE TRES GÉNEROS DE AGAVE UTILIZANDO MARCADORES ISTR

**Martha Isabel Torres-Morán¹, Moisés Martín Morales-Rivera¹ y
Andrés Rodríguez-García¹**

¹Departamento de Producción Agrícola, Instituto de Manejo y Aprovechamiento de Recursos Fitogenéticos.

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México. Km 15 carretera a Nogales C.P. 45110. Teléfono y Fax (01) 36-77-11-50 ext. 3141.

*Autor responsable: tmm08531@cucba.udg.mx

Los ISTR (Inverse Sequence-Tagged Repeat) son marcadores basados en secuencias de retrotransposones y estos son elementos genéticos que se mueven dentro del genoma de un organismo vía ARN, existen en la mayoría de las plantas y son secuencias que se auto-repican y reinsertan en diferentes partes del genoma.

Este marcador permite la amplificación al azar de ADN polimórfico, es una variante de la PCR muy utilizada para diferentes propósitos. Es una técnica que se basa en el análisis de los fragmentos que se amplifican entre dos regiones flanqueadas por oligonucleótidos con secuencias arbitrarias. El valor de esta técnica radica en que es posible obtener un número de bandas de diferentes pesos moleculares, que son específicas de la combinación de los oligonucleótidos empleados y el ADN analizado. El perfil de estas bandas representa una huella genómica característica del ADN analizado. La técnica tiene la ventaja adicional de que no se requiere un conocimiento previo de la secuencia del ADN a amplificar.

Los ISTR se han utilizado para identificar polimorfismo entre individuos y ha demostrado ser efectivo para la identificación ínter-específica en diversas especies.

En el presente trabajo, se utilizaron 5 muestras de agave de las siguientes especies: *Agave duranguensis* (muestra D3), *A. tequilana* (muestras TMC y T28) y *A. cocui* (muestras CB1 y CB3). Se realizó extracción de ADN por el método Keb-Llanes y col. (2002). Con el ADN obtenido se realizó una PCR de acuerdo a lo reportado por Rhode (1996) partiendo de 25 ng de ADN en una reacción de volumen final de 20 μ l constituidos por 0.3 μ M del iniciador, Buffer PCR 1X, MgCl 3 mM, 1.25 unidades de Taq Polimerasa y 0.25 mM de cada uno de los dntp's. El volumen se completó con agua destilada estéril. La amplificación tuvo lugar bajo el siguiente programa de termociclador, una desnaturalización inicial de 95 °C 3 minutos, seguida de 40 ciclos de 95 °C 30 segundos, 45 °C 1 min., 72 °C 2 min., luego 72 °C 10 minutos y finalmente se dejó a 4°C hasta recuperar las muestras.

Se realizó electroforesis en gel de acrilamida 4% con los productos de la amplificación y se hizo tinción con sales de plata. A partir del gel obtenido, se elaboró la matriz de presencia/ausencia de bandas. Para estimar la similitud entre muestras, se usó el

coeficiente de Jaccard de acuerdo a la ecuación $S_j = V_{ij} / (V_{ij} + W_{ij} + X_{ij})^{-1}$ que mide la proporción de bandas entre dos unidades taxonómicas, excluyendo aquellas ausentes en ambas unidades. Posteriormente, con la matriz de coeficientes de Jaccard se llevó a cabo un análisis de agrupamiento usando el método Promedio de Grupo (UPGMA) contenido en el programa NTSYS 2.11 y los resultados se presentan gráficamente en forma de dendrograma.

El marcador utilizado permitió diferenciar las muestras de las tres especies de agave, así como agrupar como especies más cercanas a las muestras de *A. duranguensis* y *A. tequilana* (coeficiente de Jaccard = 0.734).