

## Caracterización molecular de genotipos de plátano del Banco de Germoplasma de Corpoica Palmira, con uso de marcadores RAM<sub>s</sub>

<sup>1</sup>Jaime Eduardo Muñoz F\*, Mario Lobo A<sup>2</sup>, Clara Inés Medina<sup>2</sup>, Álvaro Caicedo Arana<sup>3</sup>, Yacenia Morillo Coronado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Diversidad Biológica. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. AA 237. Palmira, Valle del Cauca, Colombia. <sup>2</sup>Centro de Investigación-Corpoica La Selva. Kilómetro 7 Vía Llanogrande Rionegro. Antioquía, Colombia. <sup>3</sup>CORPOICA. Centro de Investigación Palmira. Km 1 contiguo a la Penitenciaría Nacional Palmira, Colombia. Autor para correspondencia: jemunozf@palmira.unal.edu.co

**Palabras clave:** *Musa* spp., diversidad genética, marcadores genéticos, ADN.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar molecularmente 79 genotipos de plátano del Banco de Germoplasma existente en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica Palmira, con uso de seis marcadores RAM. Se generaron noventa y tres bandas; el porcentaje de loci polimórfico varió en 88% y 90% para los cebadores TG y CT, respectivamente. El estudio de diversidad genética diferenció las setenta y nueve accesiones en ocho grupos con una similaridad de 0.78 y una heterocigosidad de 0.31, lo que revela gran polimorfismo genético. La técnica RAM permitió agrupar las accesiones de plátanos según su composición genómica, por lo cual puede ser una herramienta molecular útil para evaluar la diversidad genética en *Musáceas*.

### Introducción

La aplicación en el género *Musa* de los estudios citogenéticos y de marcadores moleculares, entre ellos, isoenzimas, RFLP (Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción), ISTR (Repeticiones de Secuencias Inversas Marcadas) y microsátelites son una valiosa ayuda para los programas de mejoramiento en la evaluación y caracterización de materiales obtenidos por mutagénesis, embriogénesis somática, cultivo de protoplastos y variación somaclonal (Wang et al., 2001). Los marcadores moleculares como los RAM son útiles para medir la diversidad genética en plantas y animales, diferencia entre familias, entre especies y al interior de la especie (Muñoz et al., 2008).

### Metodología

**Material vegetal.** Se evaluaron setenta y nueve accesiones de plátano del Banco de Germoplasma existente en Corpoica-Palmira. Para ello se tomó la hoja bandera de cada una de las accesiones con buen estado fitosanitario y se almacenaron en silica gel antes de ser transportadas al laboratorio para el análisis correspondiente.

**Caracterización molecular.** Se utilizaron seis cebadores RAM (CCA, CGA, AG, CT, TG y CA). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 25 µl, se mezclaron buffer 1X, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, dNTPs 0.2 mM, Taq Polimerasa 1U, cebador 2 µM y ADN genómico 10ng. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en geles de poliacrilamida 37:1 (acrilamida:bisacrilamida) al 7% a 150 voltios por 1 h en una cámara pequeña de DNA Sequencing System. La tinción se hizo con sales de plata y bromuro de etidio.

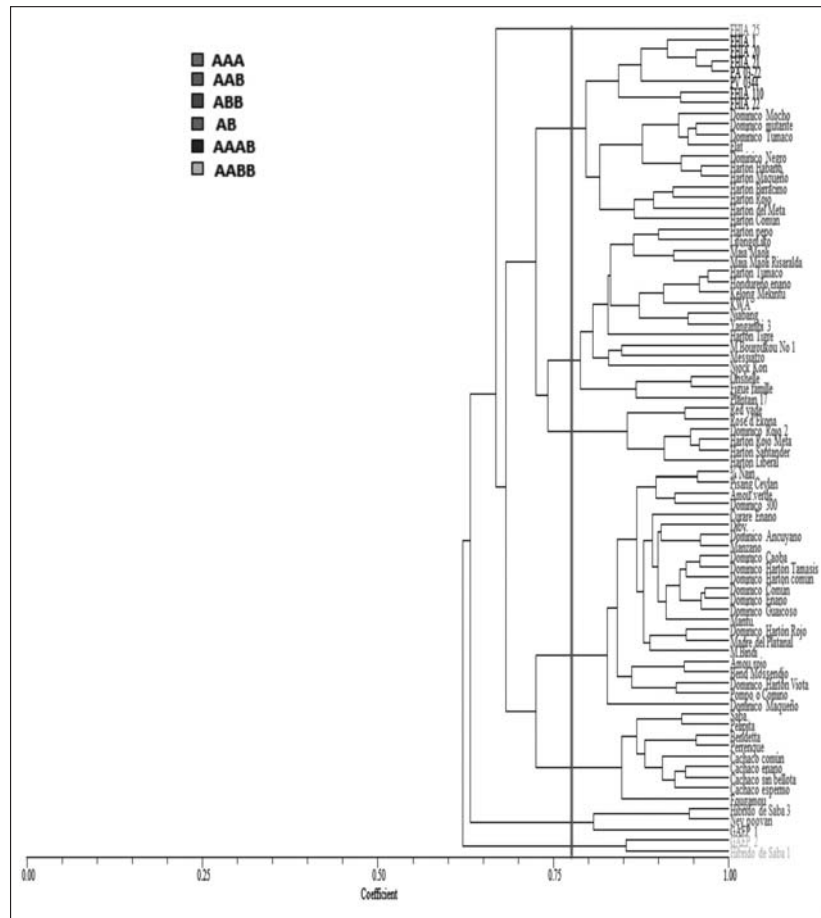
**Análisis estadístico.** Se generó una matriz binaria de ausencia (cero) y presencia (uno). La similitud genética entre los individuos se calculó utilizando el coeficiente de similitud de Nei y Li (1979). El análisis clúster se hizo con el método UPGMA y se generó un dendrograma con el paquete estadístico NTSYS versión 2.02 PC. Para evaluar la diversidad genética se estimó la heterocigosidad insesgada y el porcentaje de loci polimórficos utilizando el paquete estadístico TFPGA versión 1.3. Se determinó el *f* estadístico insesgado con un intervalo de confianza del 95%.

### Resultados

#### Estudio de diversidad genética

Los seis cebadores RAMs generaron noventa y tres bandas. La heterocigosidad promedio (*H<sub>e</sub>*) para la población fue de 0.31, lo que revela gran polimorfismo genético. El valor alto de polimorfismo (90%

y 88%) y de He (0.42 y 0.34) encontrados con los cebadores CT y TG, respectivamente, permiten concluir que estos cebadores fueron los que más detectaron la diversidad y resultan apropiados para su utilización en futuras investigaciones sobre la evaluación de la diversidad genética y estructura poblacional de genotipos de musáceas u otras especies relacionadas. El análisis mediante el coeficiente de Nei-Li, a un nivel de Similaridad de 0.78, diferenció la población en ocho grupos principales (Figura 1). La técnica RAM permitió agrupar las accesiones de plátanos según su composición genómica, por lo cual puede ser una herramienta molecular útil para evaluar la diversidad genética en Musáceas.



**Figura 1.** Dendrograma de la estructura genética de setenta y nueve accesiones de plátano basado en el Coeficiente de Nei-Li y calculado de los datos combinados de los seis cebadores Microsatélites RAM. Banco de Germoplasma Corpoica-Palmira.

## Conclusión

Los marcadores RAM son una herramienta útil para caracterizar la diversidad genética de genotipos de plátano. La técnica permitió discriminar genotipos de plátanos de acuerdo con su genoma, pero no por el subgrupo al cual pertenecen.

## Referencias

- Muñoz, J. E.; Morillo, C. A.; y Morillo, C. Y. 2008. Microsatélites amplificados al Azar (RAM) en estudios de diversidad genética vegetal. *Acta Agron.* 57 (4):219 - 226.
- Nei, M.; y Li, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleasa. *Proc Nat Acad Sci* 79:5267 - 5273.
- Wang, W.; Cui, S.; y Zhang, C. 2001. Plant regeneration from embryogenic suspension cultures of dune reed. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 67:11- 27.