

Caracterización molecular de clones de *Gmelina arborea* L. Roxb (Melina)

Gmelina arborea es una especie con gran potencial en el sector forestal colombiano, especialmente por su capacidad de adaptación, rápido crecimiento y los múltiples usos de su madera.

Investigador:

Márquez M.P, Solano G.P

Integrantes de la alianza:

Pontificia Universidad Javeriana – Pizano S.A

Período de realización:

Diciembre 2007 – diciembre 2009

Versión completa del artículo en:

<http://www.agronet.gov.co/BibliotecaDigital.html>

Allí puede buscar por título, autor, materia o palabra clave el tema de su interés.

En Colombia, la empresa Pizano S.A. ha seleccionado clones por la calidad de su madera y capacidad de enraizamiento y actualmente busca identificar aquellos que mejor se adapten a diferentes zonas del norte del país. Sin embargo, existen dudas sobre la identidad genética de estos materiales por lo que se hace necesario desarrollar una herramienta que permita identificarlos de manera rápida y confiable.

Por muchos años, la identificación de variedades vegetales se ha llevado a cabo a través de descriptores morfológicos, fenológicos y agronómicos que si bien han permitido la diferenciación de individuos, pueden presentar ambigüedades y pueden quedarse cortos a la hora de lograr su caracterización precisa (Torales et al. 2009).

Las técnicas basadas en ADN han permitido el desarrollo de una nueva generación de descriptores, conocidos como marcadores moleculares, los cuales constituyen una herramienta más adecuada para identificar individuos de una misma especie, inclusive si están estrechamente relacionados entre sí (Haines, 1994).

En Colombia la producción de clones a nivel comercial apenas está iniciando, algunas empresas reforestadoras como Pizano cuentan con programas clonales mediante técnicas de macroprogación, sin embargo aunque estas empresas han invertido tiempo y dinero en el

desarrollo y evaluación de éstos clones, no se cuenta con una herramienta que permita la obtención de un certificado de propiedad de los nuevos clones y mucho menos con un marco legal que le brinde protección a los obtentores de los nuevos materiales.

El objetivo de este proyecto fue desarrollar un protocolo de caracterización y certificación molecular de clones de *G. arborea* L. (Roxb) con potencialidades para la región caribe colombiana, de manera que se pueda contar con una herramienta para la identificación de los clones desarrollados por la empresa.

ALGUNOS RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Marcadores AFLP. El análisis de la información resultante de los marcadores AFLP se realizó con las tres combinaciones de primers que resultaron más polimórficas (EcoACT/MseCTC, EcoAGG/MseCAA, EcoACG/MseCTC), solo se tuvieron en cuenta aquellas bandas que fueran claras y reproducibles. El análisis se basó en 355 loci polimórficos. El total de polimorfismo obtenido fue de 99.4%.

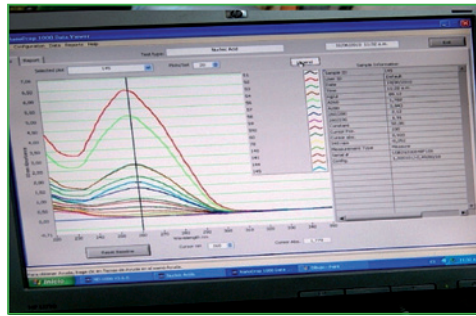
Perfiles genéticos o huella genética. El uso de la producción clonal requiere como primera instancia, de la caracterización adecuada de los genotipos existentes; los marcadores moleculares son una herramienta práctica para diferenciar los genotipos evaluados.



Plántulas de los clones de *Gmelina arborea* utilizados para la extracción de DNA



Toma de la muestra



Curvas de cuantificación

Resultados de cuantificación

Los marcadores moleculares reconocen directamente las diferencias genéticas entre individuos o clones, a partir de las cuales se puede obtener un perfil molecular o "finger-printing" característico de cada individuo e independientemente de las condiciones de crecimiento de las plantas (Narvaez et al. 2000). Además permiten obtener mejores estimaciones de la diversidad genética de una población determinada en un período de tiempo menor, en comparación con estrategias convencionales.

La identificación o certificación de un clon refleja las características únicas de cada individuo. Brick and Sivolap (2003) plantearon que un genotipo certificado es aquel en que la fórmula del estado alélico o arreglo del loci refleja la especificidad del genotipo dado, permitiendo de esta manera la identificación y diferenciación de los demás. Con los resultados de este estudio se obtuvieron perfiles genéticos para cada uno de los clones de las dos colecciones; dejando en evidencia que ninguno de los clones de las colecciones evaluadas presenta un perfil igual al otro.

Conociendo el perfil genético de cada uno de los clones, es posible controlar la estabilidad y la

pureza de cada uno de estos, en sucesivas etapas de multiplicación. Es oportuno mencionar que la silvicultura clonal, depende directamente de los recursos genéticos, que puedan generar en forma permanente nuevos clones, dando sustento a este tipo de producción.

Los resultados presentados en este estudio son un primer paso en la evaluación de la diversidad genética de las colecciones que mantiene la empresa Pizano S.A y contribuyen a una mejor toma de decisiones dentro del programa de mejoramiento genético de *G. arborea*.

Análisis de diversidad genética. El análisis de amplificación de ADN de 68 clones de *G. arborea* perteneciente a dos colecciones (Pizano y Camcore), se basó en 355 loci obtenidos con tres combinaciones de primers (EcoACT/MseCTC, EcoAGG/MseCAA, EcoACG/MseCTC); de los cuales 353 loci fueron polimórficos.

Con estos marcadores se realizó el cálculo de la distancia de Dice para obtener una matriz de distancia genética entre clones, la cual fue graficada mediante el algoritmo UPGMA.

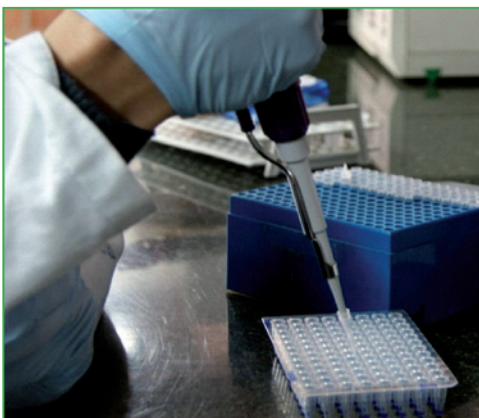
Al elaborar un dendrograma se puede observar como las dos colecciones se separan a una

distancia genética de 0.7 y no existe mezcla de individuos entre estas. Los clones de la colección de Pizano S.A. (Piz) se agrupan con un coeficiente de 0.401; la colección de Camcore (Cam) se agrupa con un coeficiente de 0.385.

Este estudio permitió obtener una información valiosa para el programa de mejoramiento genético de clones de melina de la empresa Pizano. Se encontró que los materiales evaluados presentan afinidad genética entre sí, sin embargo no existen clones que sean genéticamente idénticos, lo cual descarta la posibilidad de que existan materiales duplicados dentro de la colección de clones.

En términos generales se puede observar que la colección de clones de Pizano y la colección de clones de Camcore pertenecen a acervos genéticos distintos. Se puede sugerir que la colección de clones de Pizano presenta una base genética más amplia, pues los valores de distancia genética oscilan entre 0.13 y 0.48, mientras que los valores de distancia genética entre clones de la colección de Camcore oscilan entre 0.04 y 0.46.

Dentro del grupo de clones de Pizano fueron identificados los clones: 53, 91, 66, 60, 51, 15, 112, 31 y 78 como los diez mejores clones en términos de su comportamiento en campo (datos obtenidos por Pizano), según el análisis BLUP (mejor predictor lineal insesgado). De acuerdo a los análisis obtenidos de los datos moleculares, dentro de estos diez clones quienes presentan las mayores distancias genéticas son: clon 66 y clon 15 (0.48); clon 66 y clon 31(0.45); clon 91 y clon 31 (0.43); clon 66 y clon 112 (0.43); clon 60 y clon 31(0.42); clon 51 y clon 31(0.42); clon 15 y clon 78 (0.42); clon 91 y clon 15 (0.42); clon 112 y clon 31 (0.4) y clon 51 y clon 15 (0.4), en este sentido, los clones más divergentes con el análisis molecular, son los candidatos más útiles para establecer cruces y obtener híbridos con alto valor heterocigótico.



Preparación de la reacciones de PCR



Termociclador con la reacción de PCR