



## **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO RHODOPHIALA**

**DANIEL ALEJANDRO BENAVENTE ESTRADA  
INGENIERO AGRÓNOMO**

### **RESUMEN**

Rhodophiala, género perteneciente a la familia Amaryllidaceae, presente en Chile, posee características morfológicas con potencial ornamental y ha sido escasamente caracterizado molecularmente. Como la clasificación de este género se basa en reconocimientos morfológicos, necesita una clasificación objetiva, siendo la comparación molecular del ADN a través de secuencias repetitivas (ISSR) una herramienta biotecnológica que cumple con esta condición. El objetivo es comparar tres especies del género Rhodophiala, mediante la técnica de marcadores moleculares basados en ADN (ISSR) y estableciendo un método de extracción de ADN para el género.

Se recolectaron bulbos de 3 especies de Rhodophiala. Éstos fueron plantados en macetas con un sustrato de tierra de hojas y turba, crecidos en un invernadero con cubierta de polietileno. La extracción del ADN se realizó desde hojas, usando el método CTAB, el cual fue modificado para lograr un mejor rendimiento de extracción. La integridad del ADN fue analizada mediante gel de agarosa y cuantificada por espectrofotometría. Se generó el patrón genético por PCR, mediante la utilización de 54 partidores ISSR, de los cuales doce permitieron obtener productos de amplificación y solo diez mostraron polimorfismo entre los individuos analizados. Los productos de amplificación fueron separados por electroforesis en gel de agarosa, visualizados en un transiluminador mediante tinción con bromuro de etidio y analizados en una tabla de matriz de datos de doble estado (presencia o ausencia de bandas). Los coeficientes de similitud fueron analizados mediante varianza molecular y las distancias genéticas se utilizaron para realizar el análisis de los componentes principales (PCA) mediante el programa NTSYSpc.

Éste análisis, permite visualizar cada especie como un grupo, donde *R. splendens* y *R. ananuca* mostraron la mayor similitud. Por su parte *R. ananuca* se agrupó alejada de las anteriores, con un índice de disimilitud de aproximadamente 14%. Esta representación, fue analizada mediante la razón de los coeficientes, cuyo valor de separación entre especies es superior a 90%, indicando una alta confiabilidad del cálculo realizado. La utilización de los partidores ISSR, permiten diferenciar las especies en estudio y son una herramienta complementaria en la identificación botánica.

## ABSTRACT

The genus *Rhodophiala* belonging to the Amaryllidaceae family is present in Chile, and has morphological characteristics with ornamental potential, but has been poorly characterized at molecular level. As the classification for this genus is based in morphological recognitions a need for an objective classification is to compare the DNA fingerprinting through repetitive sequences (ISSR). The objective of this work is to compare three species of the genus *Rhodophiala* using the molecular markers DNA-based technique (ISSR) and to set a method for extracting DNA.

Three bulbs from *Rhodophiala* species were collected. These were planted in pots with a substrate organic soil and peat, grown in a greenhouse. The DNA extraction was made from leaves, using the CTAB method, which was modified to achieve a better extraction performance. The integrity of DNA was analyzed by separation in an agarose gel and quantified spectrophotometrically. The genetic fingerprinting was generated by PCR amplification, using 54 ISSR primers, twelve of which produced amplification products and only ten showed polymorphism among the analyzed samples. The amplification products were separated by agarose gel electrophoresis, and observed in a transiluminador by ethidium bromide stain and analyzed in a dual data matrix table (presence or absence of bands). The coefficients of similarity were analyzed using molecular variance and genetic distances were used to perform analysis of the principal components (PC) through the program NTSYSpc.

The analysis showed each species as a group, where *R. splendens* and *R. ananuca* presented the highest similarity degree. *R. ananuca* was grouped away from the previous two, with approximately 14% as dissimilarity index. This representation was analyzed by the coefficients' rate, whose value of separation between species was higher than 90%, indicating a high reliability of calculation. The uses of ISSR primers allowed to differentiate the species and are a complementary tool for the botanical identifying.