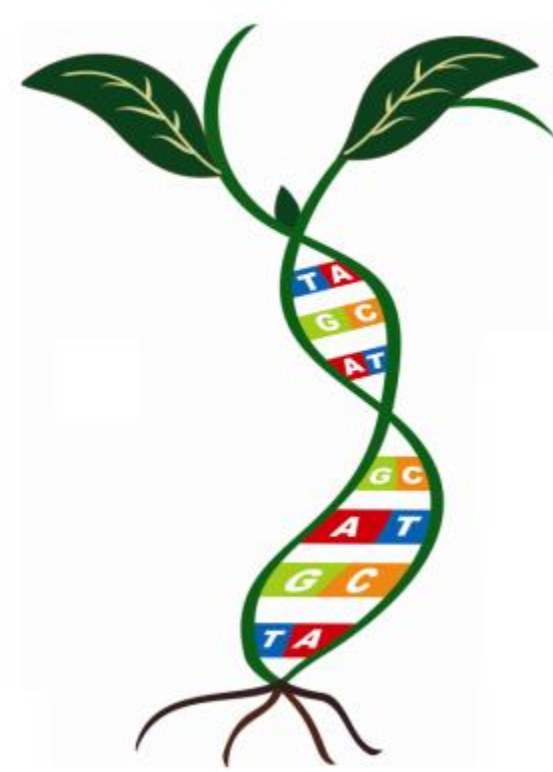


Evaluación de un código de barras para la identificación de especies del género *Capsicum*



¹Rubén Ferro, ²Cinthy Zorrilla, ³Yolanda Delgado-Silva, ⁴Dora Henriques, ⁴Catia Neves, ^{4,5*}Julio Chávez-Galarza

¹Universidad Nacional Mayor de San Marcos Calle German Amezcaga 375, Cercado de Lima (rubenferro20@gmail.com)

²Universidad Nacional Agraria La Molina, Av La Molina s/n, La Molina

³Instituto Nacional de Innovación Agraria, Av. La Molina 1981, La Molina

⁴Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253, Bragança, Portugal

⁵Universidad Nacional de Cañete, Urb. Rosa de Hualcará, Calle Canal Maria Angola s/n, San Vicente de Cañete

Correspondencia: jchavez@undc.edu.pe.



INTRODUCCIÓN

Durante la última década, varias regiones del genoma de cloroplasto tales como *atpF-H*, *matK*, *psbK-l*, *rbcl*, *ropC1*, *rpoB*, *trnH-psbA* y *trnL-F* que son frecuentemente usados en sistemática molecular de plantas han sido extensamente evaluados. Solamente los genes *rbcl* y *matK* han sido seleccionados como códigos de barra de ADN para plantas por el Consorcio del Código de Barras de la Vida-CBOL (Hollingsworth *et al.* 2011), pero no han podido resolver la identificación de especies completamente. Recientemente, se propuso como un gen promisorio para ser usado como código de barras genético al gen del cloroplasto *ycf1*, que presenta dos regiones muy variables en plantas con flores (Dong *et al.* 2016). Un análisis de ocho regiones intrónicas como código de barras de manera independiente, no consiguió distinguir a nivel de especies a *C. annuum*, *C. frutescens* y *C. chinense*, solo fue posible hacerlo bajo la combinación de tres secuencias: *trnL-trnT*, *trnF-trnL* and *trnH-psbA* (Jarret 2008). El objetivo de este trabajo es analizar “*in silico*” las secuencias del gen *ycf1* y su combinación con genes usados por el CBOL en diferentes especies del género *Capsicum* obtenidos de las base de datos del GENBANK, para poder identificar su nivel de discriminación de especies.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de resolución filogenética de diferentes marcadores moleculares como *rbcl*, *matK* y *ycf1*, en el género *Capsicum* y otras familias.

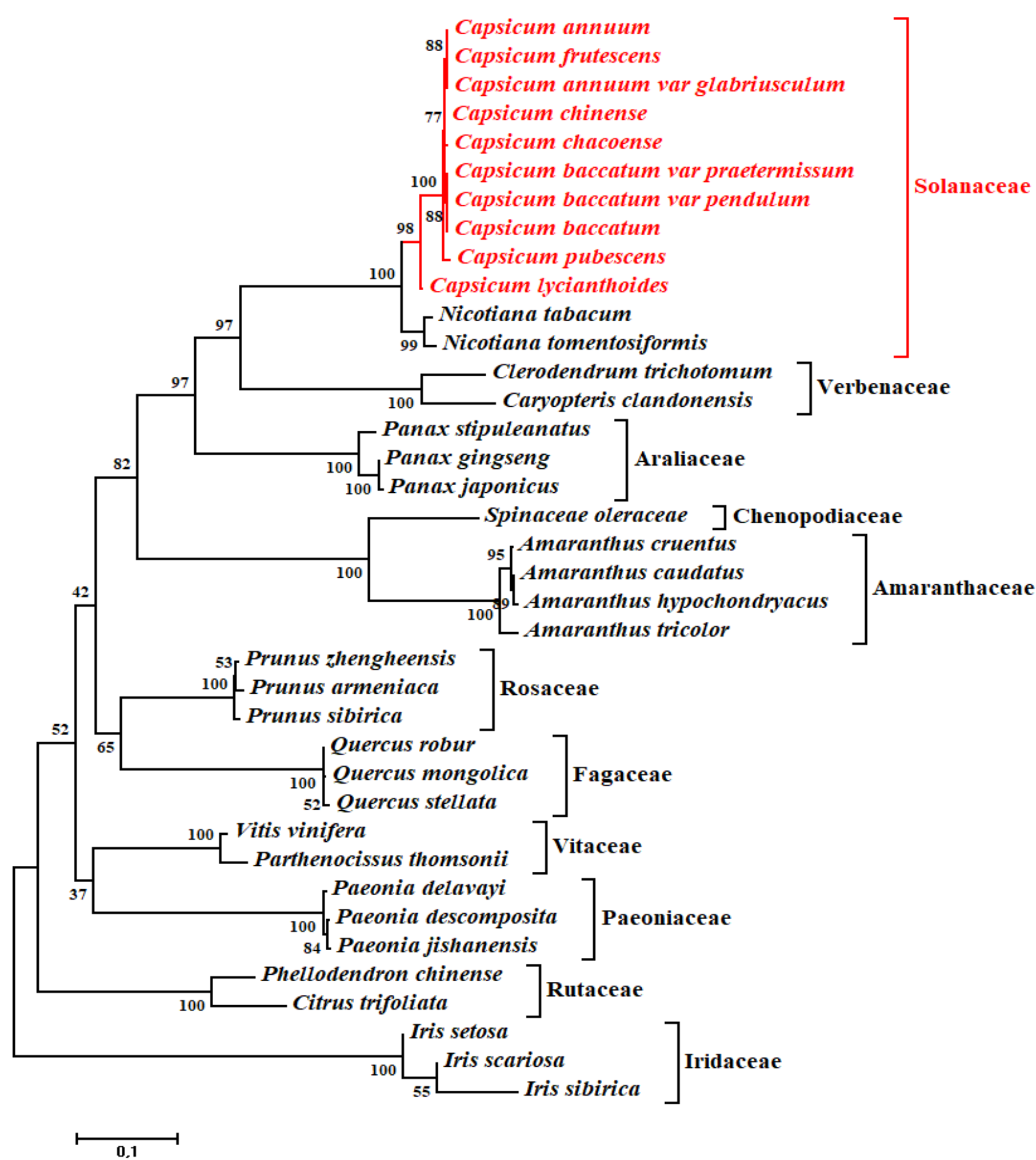
METODOLOGÍA

- Las secuencias de los genes *ycf1*, *matK* y *rbcl* de *Nicotiana tabacum* fueron usadas como referencia para predecir sus ortólogos en los genomas cloroplastidiales en 8 especies del género *Capsicum* y la familia *Amaranthaceae* disponibles en el NCBI.
- Para las especies de la familia *Rosaceae*, *Fagaceae*, *Chenopodiaceae*, *Vitaceae*, *Rutaceae*, *Verbenaceae*, *Solanaceae*, *Araliaceae*, *Paeoniaceae*, *Iridaceae*; los fragmentos de las secuencias de los genes *ycf1*, *matK* y *rbcl*, fueron usados como código de barras genético, y obtenidos del GENE BANK (Dong *et al.* 2016).
- Las secuencias de los genes fueron alineadas y analizadas usando CLUSTALW incorporado dentro del programa MEGA.
- Topologías *neighbor-joining* (NJ) basadas en la secuencia de genes *ycf1*, *matK* y *rbcl* fueron llevadas a cabo para la representación gráfica de los patrones de divergencia de las secuencias de los genes entre especies, realizando análisis de a nivel de gen y la combinación entre ellos. El modelo genético de distancia Kimura – dos parámetros fue usado para estimar la divergencia nucleotídica. Todas las topologías NJ fueran soportadas con 1000 *bootstraps*.

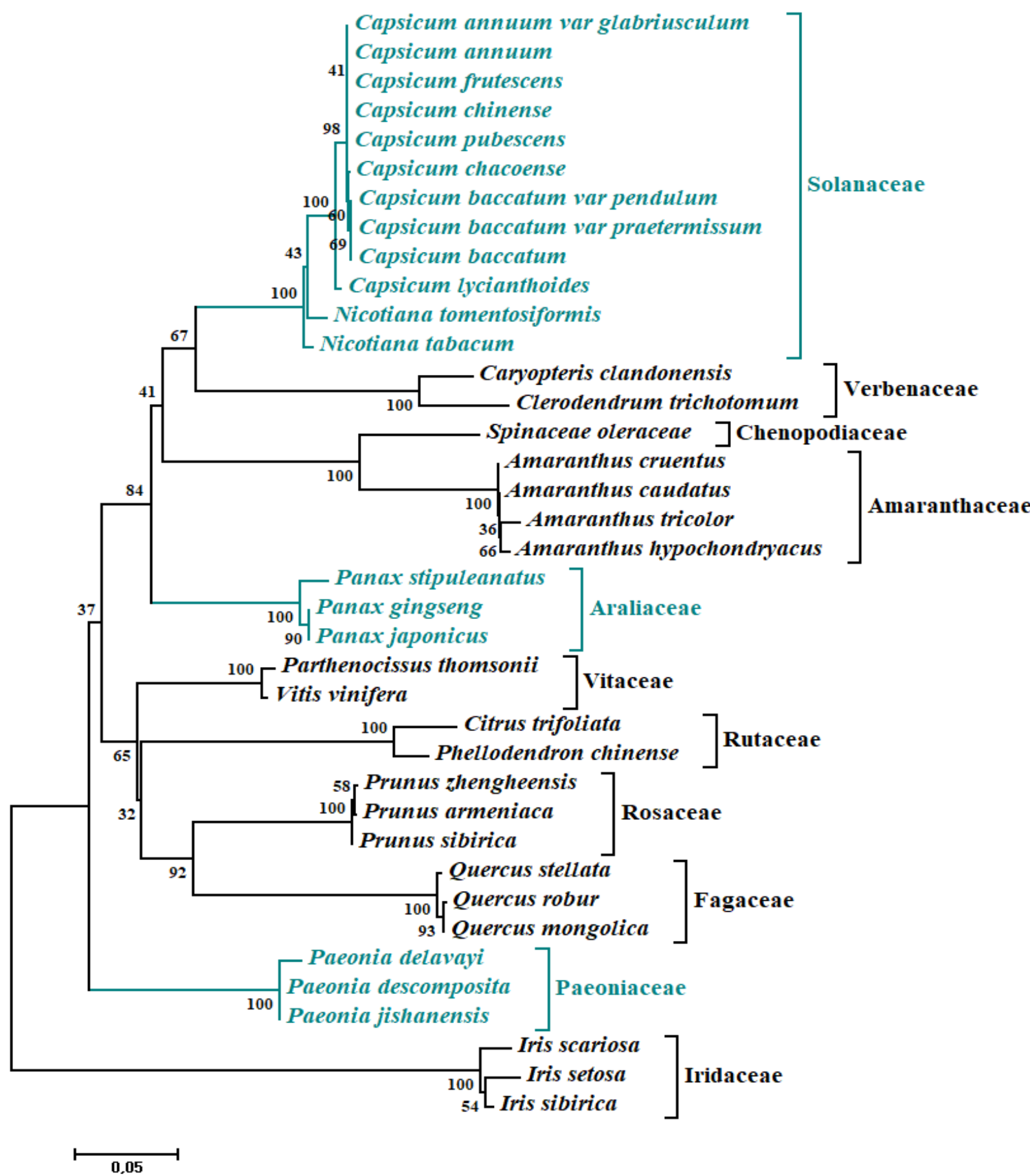
RESULTADOS

- El gen *ycf1*, fue el único que permitió discriminar a las especies en todas las familias analizadas. Treinta tres sitios polimórficos de la región considerada como códigos de barra del gen *ycf1* permiten distinguir a las especies dentro del género *Capsicum* que disponen de secuencia en el NCBI, reportados a la fecha (Figura a).
- Mientras el gen *matK* no distinguió a las especies del género *Capsicum*, ni a las especies que pertenecen a las Familias *Araliaceae* y *Paeoniaceae* (Figura b). Similarmente, el gen *rbcl* no distinguió a las especies del género *Capsicum*, incluyendo a las especies de las familias *Amaranthaceae* y *Rosaceae* (Figura c).
- En el análisis de combinación de genes, todas las topologías que incluían al gen *ycf1* conseguían distinguir a las especies del género *Capsicum*.
- Recientemente, las especies *C. annuum* y *C. frutescens* en la base de datos del Plant List son considerados como especies sinónimas, lo cual también es encontrado en este estudio al no presentar diferencias en sitios polimórficos considerados para diferenciar especies (Figura 1), mereciendo extra estudios para confirmar la veracidad de la sinonimia.

a)



b)



c)

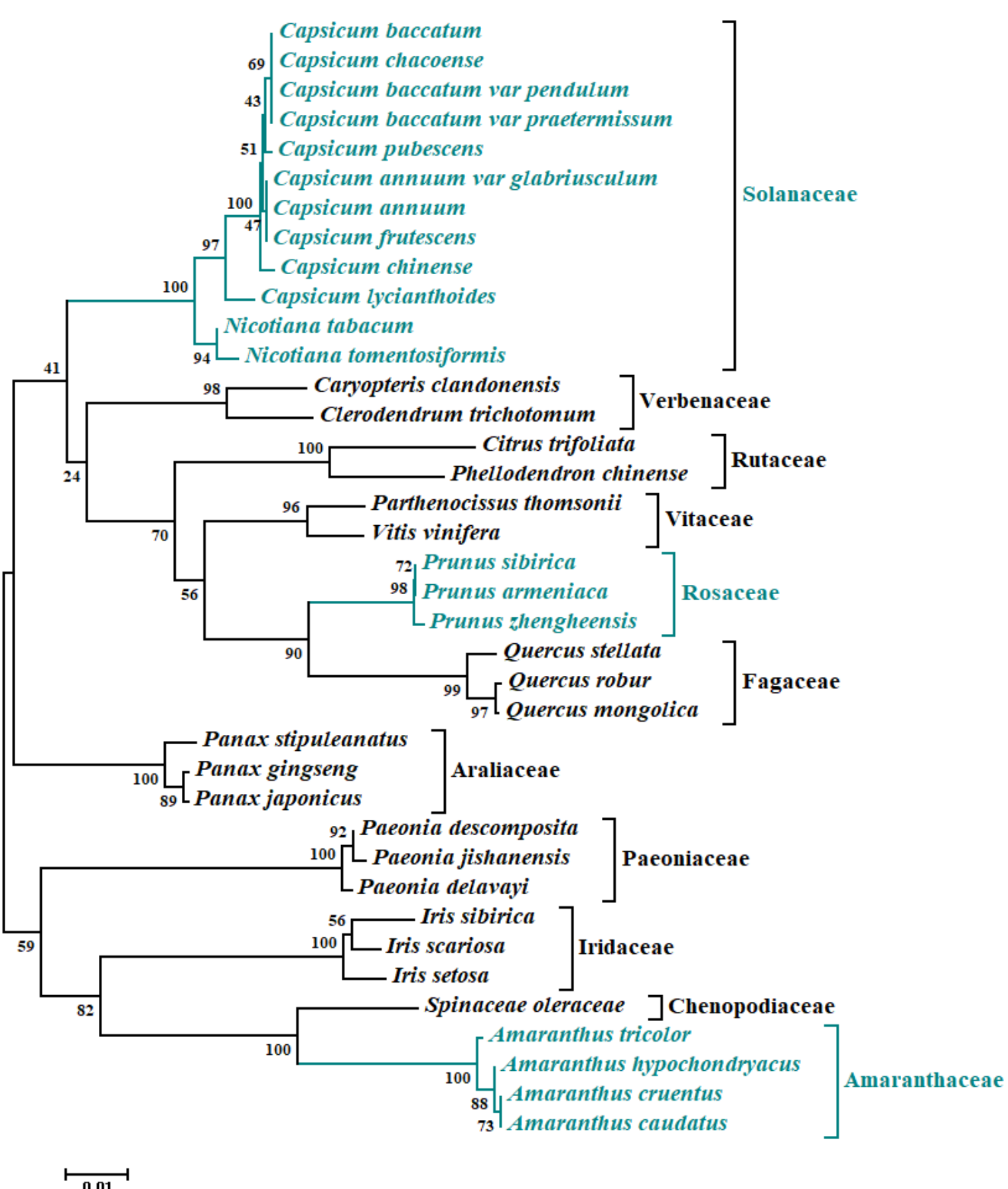


Figura. Relaciones filogenéticas de los fragmentos de secuencias de los genes usados como código de barras genético para especies de *Capsicum* y otras familias a) *ycf1*, b) *matK*, c) *rbcl* y d) los 3 genes. El color rojo indica si el gen identifica las especies en *Capsicum*, el color cian si los genes no consiguen distinguir las especies, y el negro si distinguen a las especies en otros géneros diferentes a *Capsicum*.

CONCLUSIONES

- Nuestros resultados revelan el poder discriminatorio del gen *ycf1* con respecto a los otros genes recomendados por el CBOL, lo cual es concordante con previos estudios en esta región genómica (Dong *et al.* 2012, 2016). Sugiriendo su inclusión como nuevo gen para código de barras genéticos para plantas en especial para el género *Amaranthus*.
- Es necesario incluir más individuos de la misma especie para poder identificar y diferenciar polimorfismos interespecíficos e intraespecíficos, lo que mejorará este método para identificar poblaciones dentro de una especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DONG W; XU C; LI C; SUN J; ZUO Y; SHI S; CHENG T; GUO J; ZHOU S. 2016. *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. Scientific Reports. 5: 8348.
- JARRET, RL. 2008. DNA barcoding in a crop genebank: the *Capsicum annuum* species complex. *The Open Biology Journal* 1(1):35-42.
- HOLLINGSWORTH, PM; SEAN WG; DAMON PL. 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS ONE* 6(5) e19254.