



UADY
FACULTAD DE
QUÍMICA

**DIVERSIDAD Y RELACIONES FILOGÉNETICAS EN
Cocos nucifera L. MEDIANTE MARCADORES
MOLECULARES ISSRs EN MÉXICO**

TESIS

PRESENTADA POR

MARIANA RUIZ RODRIGUEZ

EN OPCIÓN AL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2007

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	iv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 TAXONOMÍA DEL COCOTERO	3
2.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA	4
2.3 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN	5
2.4 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	6
2.5 VARIEDADES DEL COCOTERO	7
2.6 ECOTIPOS DE COCOTERO PRESENTES EN MÉXICO	9
2.6.1 ECOTIPOS ALTOS EN MEXICO	9
2.6.2 ECOTIPOS ENANOS EN MEXICO	10
2.7 PROBLEMÁTICA DEL COCOTERO EN MÉXICO	11
2.7.1 AMARILLAMIENTO LETAL	11
2.8 ALTERNATIVAS DE SOLUCIÓN	12
2.9 MARCADORES MOLECULARES	12
2.10 TIPOS DE MARCADORES	14
2.10.1 RAPD (ADN POLIMÓRFICO AMPLIFICADOS AL AZAR)	14
2.10.2 RFLP (POLIMORFISMO EN FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN)	15
2.10.3 AFLP (POLIMORFISMO DE LONGITUD EN FRAGMENTOS AMPLIFICADOS)	15
2.10.4 SSR O MICROSATÉLITES (SECUENCIAS SIMPLES REPETIDAS)	15
2.10.5 ISSRS (INTER-SECUENCIAS SIMPLES REPETITIVAS)	15
2.11 APLICACIÓN DE MARCADORES EN <i>Cocos nucifera</i> L.	16
3. OBJETIVOS	19
4. HIPÓTESIS	20
5. DISEÑO EXPERIMENTAL	21
6. MATERIALES Y MÉTODOS	23

	Página
6.1 MATERIAL VEGETAL	23
6.2 RECOLECTA DEL MATERIAL VEGETAL	25
6.3 EXTRACCIÓN DE ADN	25
6.4 CUANTIFICACIÓN DEL ADN POR UV (ESPECTROFOTOMETRÍA)	26
6.5 AMPLIFICACIONES POR PCR	27
6.6 ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS AMPLIFICADOS POR PCR	28
6.7 ELECTROFORESIS EN GELES DE POLIACRILAMIDA	29
6.8 TINCIÓN CON LA TÉCNICA DE NITRATO DE PLATA	30
6.9 INTERPRETACIÓN DE BANDAS Y LECTURA DE GELES	31
6.10 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	32
6.10.1 CARACTERIZACIÓN, DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA	32
6.10.2 CORRELACIÓN ENTRE DISTANCIA GENÉTICA Y MORTALIDAD AL AMARILLAMIENTO LETAL	33
7. RESULTADOS	
7.1 ESTABLECIMIENTO DE LOS MARCADORES MOLECULARES ISSR	34
7.2 CARACTERIZACIÓN DE ECOTIPOS	37
7.3 RIQUEZA Y DIVERSIDAD GENÉTICA	43
7.4 ESTRUCTURA GENÉTICA	45
7.5 DISTANCIAS GENÉTICAS Y AGRUPAMIENTOS	46
7.6 CORRELACION DISTANCIA GENÉTICA RESISTENCIA AL AMARILLAMIENTO LETAL	50
8. DISCUSIÓN	51
9. CONCLUSIÓN.	57
APÉNDICE I	59
Apéndice Ia. Matriz 1.Ecotipo Alto Atlántico (MXAT), población CA1	59
Apéndice Ib. Matriz 2.Ecotipo Alto Pacífico 3(MXPT3), población G2	60
Apéndice Ic. Matriz 3.Ecotipo Alto Pacífico 1(MXPT1), población M1	61

	Página
Apéndice Id. Matriz 4. Ecotipo Alto Pacífico 2(MXPT2), población C1	62
Apéndice Ie. Matriz 5. Ecotipo Alto Oeste Africano(WAT), población WAT.	63
Apéndice If. Matriz 6. Ecotipo Alto Panamá (PT), población PT	64
Apéndice Ig. Matriz 7. Ecotipo Alto Renell (RLT), población RLT	65
Apéndice Ih. Matriz 8. Ecotipo Polinesio(PYT), población PYT	66
Apéndice II. Matriz 9. Ecotipo Enano Malayo Amarillo (MYD)	67
APÉNDICE II	68
REACTIVOS	68
SOLUCIONES	69
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	72

RESUMEN

De entre todas las palmas cultivadas, *Cocos nucifera L.* es la que posee mayor valor económico, y crece en un rango geográfico amplio. Esto ha impulsado el interés en el conocimiento de su origen evolutivo y su diversidad genética, para diseñar estrategias de conservación y mejoramiento. Incluimos cuatro ecotipos mexicanos representativos de las áreas de cultivo: Alto Atlántico (MXAT), Alto Pacífico 1 (MXPT1); Alto Pacífico 2 (MXPT2) y Alto Pacífico 3 (MXPT3) y cinco ecotipos importados de varias regiones del mundo: Alto Oeste Africano (WAT), Alto Rennell (RLT), Alto Polinesio (PYT), Alto Panamá (PT) y Enano Amarillo Malayo (MYD). Los objetivos del presente trabajo fueron: (1) establecer la metodología molecular de Inter-Microsatelital (ISSRs); (2) estimar la diversidad y la estructura genética de los ecotipos estudiados, (3) describir las relaciones filogenéticas de los ecotipos Mexicanos y los importados, (4) establecer una posible correlación entre distancia genética y resistencia al Amarillamiento Letal(AL). Se establecieron siete sistemas moleculares multi-*loci* y se estudió el polimorfismo en 33 *loci* polimórficos en tres sistemas que presentaron alta resolución. Se estableció con éxito la metodología, encontrándose *loci* específicos para la certificación de progenitores y sus cruzas. Los ecotipos mexicanos mostraron alta diversidad genética (%LP=70-80; $h= 0.20-0.30$; $Ht=0.36$), aunque menor a los importados (%LP=79-91; $h=0.25-0.32$; $Ht=0.37$), indicando la conveniencia de incorporar germoplasma para el mejoramiento genético sustentable. El patrón de agrupamiento UPGMA, basado en distancias genéticas, sugiere introducciones independientes en ambas costas, apoyando estudios históricos, morfológicos y genéticos previos. Se observó una alta correlación entre la distancia genética a MYD y la mortalidad debido al AL, sugiriendo que la distancia genética puede ser útil para la selección de genotipos resistentes al AL.