



ESTUDIO DEL ITS NUCLEAR EN ALGUNOS HONGOS ECTOMICORRIZÓGENOS NATIVOS DEL ESTADO DE HIDALGO

M. C. López-López, Z. Carranza-Díaz, R. G. Campos-Montiel, **B. R. Rodríguez-Pastrana**, CICyTA, ICAp, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo, Hgo. 43600 Fax (771) 7172125 blanrop@hotmail.com.

Palabras clave: Espacio interno transcrito (ITS), hongo ectomicorrizógeno, PCR-RFLP

Introducción. La micorriza se define como la asociación mutualista entre las raíces de una planta y un hongo. Existen nuevos métodos para llevar a cabo estudios de taxonomía, filogenia y ecología en hongos mediante el uso de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y RFLP. Estos estudios consisten en el análisis de un gen o de una región del genoma, como el ITS que se encuentra repetidamente entre los genes del RNA ribosomal de la subunidad mayor y menor del ADN nuclear. El ITS contiene dos regiones espaciadoras separadas por el gen 5.8S ARNr. Estas regiones pueden ser amplificadas mediante el uso de pares de primers o iniciadores universales, ITS1 y ITS4. El producto amplificado es después digerido con enzimas de restricción para observar polimorfismo en sus fragmentos mediante electroforesis en agarosa (1).

Este trabajo pretende contribuir al conocimiento de las diferentes especies de hongos ectomicorrizógenos del Estado de Hidalgo mediante la determinación o identificación de hongos comestibles con apoyo de técnicas moleculares y justificarlas con especies comerciales.

Metodología. El material fúngico estudiado proviene de Singuilucan, Hidalgo. Los basidiocarpos fueron recolectados en bosque de encino-pino. El aislamiento se realizó a partir de los basidiocarpos en medio nutritivo de PDA a 25°C en la oscuridad (2). La extracción de ADN total se hizo de acuerdo al proveedor del kit (Promega, Madison, Wis). La amplificación se realizó con los primers ITS1-ITS4 (4) con una temperatura de alineamiento de 52°C. Para el análisis de RFLP (polimorfismo de los fragmentos de restricción) del ITS completo se utilizaron las enzimas de restricción Hinf I y Rsa I (2,3).

Resultados y discusión. Los productos del PCR digeridos con la enzima de restricción Hinf I demostró un polimorfismo aparente entre *Tricholoma*-like (carril 1, 2), *Lactarius*-like (carril 6) y los demás cultivos puros (carriles 3-10) (figura 1).

El perfil de restricción con la enzima Rsa I, no distingue entre las cepas de *Russula* sp. *Cantharellus* sp. y *Lactarius* sp. (carriles 15, 16, 17-19). Sin embargo, el fragmento ITS de *Tricholoma*-like no es digerida con esta enzima de restricción, ya que la talla es similar al fragmento sin digerir (datos no mostrados).

La talla de la banda de los carriles 1 y 2 son aproximadamente la mitad de las bandas de los carriles 13 y 14, sugiriendo que Hinf I corta a la mitad del fragmento ITS.

Conclusiones. El polimorfismo de las cepas puras de hongos ectomicorrizógenos provenientes del Estado de Hidalgo no es considerable excepto para la cepa de *Tricholoma*-like, la longitud de sus fragmentos de restricción varía con las enzimas utilizadas.

Se requiere la secuenciación de nucleótidos del ITS para determinar el grado de similitud o disimilitud de las especies estudiadas.

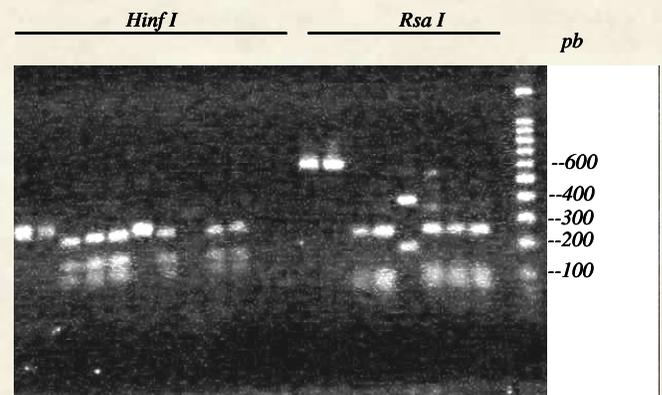


Fig. 1. Perfil electroforético del fragmento ITS amplificado de 6 hongos aislados digeridos con las enzimas de restricción Hinf I y Rsa I. Carriles 1,2, 13,14, *Tricholoma*-like Carril 3, 9,15, *Russula* sp, Carril 4,16, *Cantharellus* sp, carril 6,7,10,11 18 y 19 *Lactarius* sp. M, Marcador de peso molecular 100 bp (Promega, Corporation, Madison, WI)

Agradecimiento. Los autores agradecen al Programa de Mejoramiento de Profesores (PROMEP) por el apoyo brindado para la realización de ésta investigación.

Bibliografía.

- Gomes EA, Kasuya MCM, de Barros EG, Borges AC, Araujo EF. (2002). Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. *Genet. Mol. Biol.* 25 (4): 477-483.
- Carranza-Díaz Z. (2004). Aislamiento de algunos hongos ectomicorrizógenos nativos del estado de Hidalgo *IV symposium nacional y II symposium iberoamericano de la simbiosis micorrízica*. Universidad Michoacán de San Nicolás de Hidalgo. Morelia Michoacán, 9-12 de noviembre, p.p 105.
- Nouhra ER, Horton TR, Cazares E, Castellano M. (2005). Morphological and molecular characterization of selected *Ramaria mycorrhizae* *Mycorrhiza* 15:55-59.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for Phylogenetics. En: *PCR-Protocols and Applications-A Laboratory Manual* Eds, Academic Press New York 315-322.