



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE
LA AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR: DANIELA CECILIA SANTAMARÍA AYALA

**TEMA: ESTUDIO DE VARIABILIDAD GENÉTICA EN
POBLACIONES DE CEDRO DE MONTAÑA (*Cedrela montana* J.
Moritz ex Turczaninov) Y POROTÓN (*Erithryna edulis* Triana ex
Michaelli) CON MARCADORES SSR (*Simple Sequence Repeats*) e
ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*)**

**DIRECTORA: DRA. KARINA PROAÑO
CODIRECTOR: ING. MARCO TAIPE
SANGOLQUÍ
2015**

RESUMEN

La diversidad de especies forestales en el Ecuador, se ha visto vulnerada, llevando a una reducción alarmante de las poblaciones de estas especies. Siendo consideradas de vital importancia especies forestales nativas como: cedro de montaña (*Cedrela montana* J. Moritz ex Turcz aninov) y porotón (*Erithryna edulis* Triana ex Michaeli), ya que se las ha catalogado según la lista Roja de la UICN como especies En Peligro Crítico (CR). Por lo cual, el objetivo de esta investigación fue la realización en forma indispensable de un estudio de variabilidad genética de estas especies forestales afectadas, en sectores donde habitan como el Valle del Quijos y el Austro. Para posteriormente conocer el estado de diversidad y actuar con estrategias de conservación que mitiguen esta reducción de material genético. En el proceso de estandarización de marcadores moleculares codominantes (4 SSR) para *C. montana* (163 individuos), y dominantes (6 ISSR) y 9 para *E. edulis* (161 individuos de cedro y 47 individuos de *E. edulis*), se ensayó 2 métodos de extracción convencionales (SORBITOL-CTAB, y CTAB), recurriendo a utilizar CTAB por su alto rendimiento al obtener un rango promedio óptimo, tanto de pureza como de concentración de ADN, de 1.89 y 1209.32 ng/uL, respectivamente para ambas especies. El genotipaje se llevó a cabo en dos tipos de analizadores Genéticos, por un lado para SSR se utilizó el LI-COR ® 4300S, mientras que para ISSR se empleó el programa Photocapt Molecular Weight Version 10.01. Los resultados obtenidos a partir de las matrices genotípicas generadas por estos programas, recalcan el alto nivel de diversidad que presentan los individuos evaluados de estas especies, así se obtuvieron altos valores en parámetros de diversidad como heterocigosis (en *C. montana* $H_o = 0.597 > H_e = 0.584$, con ISSR $uH = 0.398 > H = 0.393$; en *E. edulis* $uH = 0.385 > H = 0.378$) y PIC (*C. montana* con SSR=0.559; con ISSR=0.308; *C. montana* ISSR=0.303). Los métodos de distribución realizados a partir de UPGMA con coeficiente de Jaccard (J), PCoA, y alta correlación geográfica entre los individuos, mostraron distribución bastante definida correspondiente en la mayoría a cada sector analizado. La distribución con mayor diversidad detectada de acuerdo al AMOVA, y estadísticos G y F, es una distribución intrapoblacional, identificando que 95,05% de la población de *C. montana* y 94,36% de *E. edulis*, corresponden a esta diversidad. La variabilidad detectada en *C. montana* con 2 tipos de marcadores marcadores (SSR e ISSR), permitió obtener más información y robustecer el estudio.

***Palabras Clave:** *C. montana*, *E. edulis*, SSR; ISSR, PIC, heterocigosis, AMOVA, estadísticos F y G

ABSTRACT

The diversity of forestal species in Ecuador, has been violated, it involved an alarming decline in populations of these species. Being considered important native forest species such as cedro de montaña (*Cedrela montana* J. Moritz ex Turcz aninov) and porotón (*Erithryna edulis* Triana ex Michaeli), cataloged as critical danger (CR) according to the Red List of IUCN. Therefore, the objective of this research was the study of Genetic variability of forestal species affected in áreas where inhabit as Valle del Quijos and Austro. For then, know the diversity status and act with conservation strategies, to mitigate the reduction of genetic material.

In the process of standardization of codominant molecular markers (4 SSR) for *C. montana* (163 samples), and dominant (6 ISSR) for *C. montana* and 9 for *E. edulis* (161 samples of cedar and 47 samples of *E. edulis*), 2 conventional extraction methods was assayed (SORBITOL-CTAB, and CTAB), of them he was chosen CTAB, for the high performance in obtaining a optimal average range of purity as concentration, 1.89 and 1209.32 ng / uL, respectively for both species. Genotyping was performed on two types of genetic analyzers, first for SSR it was used LI-COR ® 4300S, while for ISSR was used the Software Photocapt Molecular Weight Version 10.01. The results achieved from genotypic matrices, emphasize the high level of diversity that show the samples assayed of each specie, thus higher values were obtained in diverse settings as heterozygosity (cedar with SSR $H_o = 0,597 > H_e = 0,584$, with ISSR $uH = 0,398 > H = 0,393$; porotón with ISSR $uH = 0,385 > H = 0,378$) and PIC (cedar with SSR=0,559; *C. montana* with ISSR=0,308; *E. edulis* with ISSR=0,303). Distribution methods made from UPGMA with Jaccard coefficient (J), PCoA, and high geographical correlation between samples, showed a fairly defined distribution according to each area assayed. The most diverse distribution detected according to the AMOVA, and statistical F and G, is a intrapopulation distribution, identifying that 95.05% of the population of *C. montana*, and 94.36% of *E. edulis* correspond to this diversity. The variability detected in *C. montana* with 2 types of molecular markers (SSR and ISSR), allowed to obtain more information and strengthen research.

* **Keywords:** SSR; ISSR, PIC, heterozygosity, AMOVA, statistical F and G