

Estudio molecular del complejo poleo enfocado a su control de calidad

Juárez-Razo R.R^{1,2}, Cristians S.¹

¹Laboratorio de Etnobotánica Integrativa, Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM.

²Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.



Introducción

Complejo poleo

Uno de los complejos usados en la Medicina Tradicional Mexicana es el complejo poleo, las especies que núcleon este complejo se caracterizan por estar denominadas popularmente bajo el nombre de poleo, tener un aroma característico mentolado y utilizarse para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales¹, está compuesto por especies introducidas como *Mentha piperita*, *M. pulegium* y *Lippia turbinata*, así como especies nativas tales como *Clinopodium mexicanum*, *C. macrostemum* y *Cunila lythrifolia*.

En el presente estudio solamente se evaluaron muestras de las especies *L. turbinata*, *C. macrostemum* y *C. mexicanum*



C. mexicanum



L. turbinata



C. macrostemum

Foto: <https://sib.gob.ar/especies/lippia-turbinata>

<https://enciclovida.mx/especies/192446-clinopodium>

Ortiz, L., Palacio, L., Brunetti, P., Lloret, C., Cantero, J., & Goleniowski, M. (2007). REGENERACIÓN IN VITRO DE PLANTAS DE POLEO (*Lippia turbinata* Griseb var. *turbinata*).

Objetivos

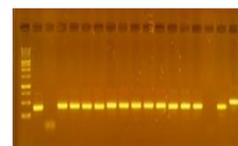
- Generar el código de barras molecular para especies selectas que conforman el complejo poleo.
- Aislar DNA de calidad de una serie de muestras de las especies selectas del complejo poleo.
- Evaluar la capacidad discriminativa de los marcadores moleculares propuestos por el CBOL.
- Proponer un código de barras molecular (marcador aislado o concatenado) que permita diferenciar especies selectas del complejo poleo.

Método

Extracción de DNA con un kit comercial "DNeasy Plant Mini"



Amplificación de marcadores moleculares



Curar y generar la secuencia consenso



Utilizando un análisis de distancia del código de barras (barcoding gap) mediante el programa ABGD (Puillandre et al., 2011) para ver si existe una separación significativa entre las distancias intra e interespecíficas



Análisis discriminativos

Utilizando Mega Version 6 partiendo de una aproximación filogenética aplicando análisis de máxima verosimilitud



Muestra	Clave	Concentración de DNA (ng/μL)	Pureza (260/280)	Contaminación(260/230)
<i>L. turbinata</i> 1	A1	26.1	2.03	5.06
<i>L. turbinata</i> 2	A2	124.8	1.91	1.45
<i>L. turbinata</i> 3	A3	60.7	1.84	1.77
<i>L. turbinata</i> 4	A4	73.4	2.98	3.43
<i>L. turbinata</i> 5	A5	23.1	1.96	1.77
<i>C. macrostemum</i> 1	B1	16.7	1.95	4.22
<i>C. macrostemum</i> 2	B2	23.3	1.96	1.67
<i>C. macrostemum</i> 3	B3	22	1.94	1.83
<i>C. macrostemum</i> 4	B4	31.9	1.53	0.94
<i>C. macrostemum</i> 5	B5	16.2	2.1	1.91
<i>C. macrostemum</i> 6	B6	35.5	1.71	1.44
<i>C. mexicanum</i> 1	C1	94.1	1.71	1.72
<i>C. mexicanum</i> 2	C2	96.4	1.96	3.21
<i>C. mexicanum</i> 3	C3	68.8	1.71	3.19
<i>C. mexicanum</i> 4	C4	36.2	1.65	3.04
<i>C. mexicanum</i> 5	C5	52.9	1.51	1.57
<i>C. mexicanum</i> 6	C6	26.9	2.08	1.82

Concentración del DNA obtenido. Las muestras marcadas con color amarillo se descartaron a no presentar amplicones; el color morado indica aquellas muestras fuera de los rangos de pureza y contaminación.

Marcador	Valor de P	Grupos Generados	Grupo	Especies por Grupo
ITS2	0.001-0.0215	2	1-	<i>C. macrostemum</i> y <i>C. mexicanum</i>
			2-	<i>L. turbinata</i>
rbcL	0.001-0.0219	3	1-	<i>C. macrostemum</i>
			2-	<i>C. mexicanum</i>
			3-	<i>L. turbinata</i>
rpl32-trnL	0.001-0.100	2	1-	<i>C. mexicanum</i>
			2-	<i>C. macrostemum</i>
			3-	<i>L. turbinata</i>
trnH-psbA	0.001-0.0046	3	1-	<i>C. macrostemum</i>
			2-	<i>C. mexicanum</i>
			3-	<i>L. turbinata</i>
trnH-psbA	0.0077-0.100	2	1-	<i>C. macrostemum</i> y <i>C. mexicanum</i>
			2-	<i>L. turbinata</i>

El análisis de Barcoding Gap muestra que a diferencia del análisis filogenético el marcador ITS2 fue incapaz de diferenciar a las dos especies del género *Clinopodium*.

Resultados

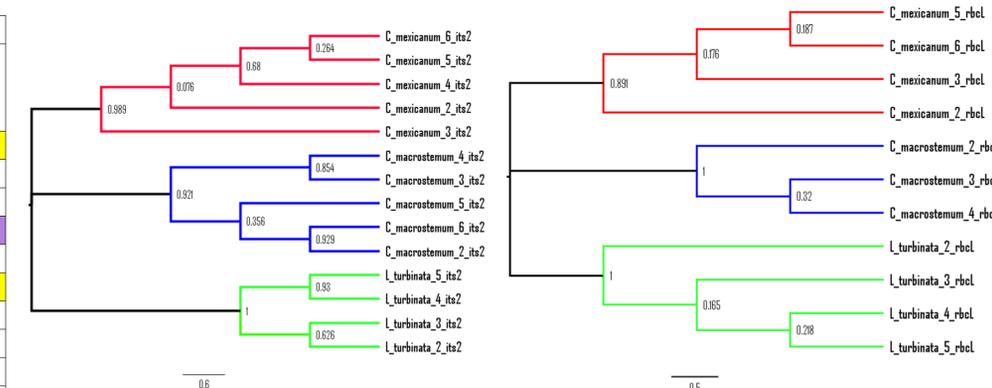


Figura 1.- Cladograma del marcador ITS2. Alineación de la secuencia utilizando el algoritmo MUSCLE, construcción del árbol de máxima verosimilitud utilizando el modelo Tamura 3-parámetro. El número a un lado de cada nodo equivale al porcentaje de 1000 interacciones por el método Bootstrap.

Figura 2.- Cladograma del marcador rbcL. Alineación de la secuencia utilizando el algoritmo MUSCLE, construcción del árbol de máxima verosimilitud utilizando el modelo Jukes-Cantor. El número a un lado de cada nodo equivale al porcentaje de 1000 interacciones por el método Bootstrap.

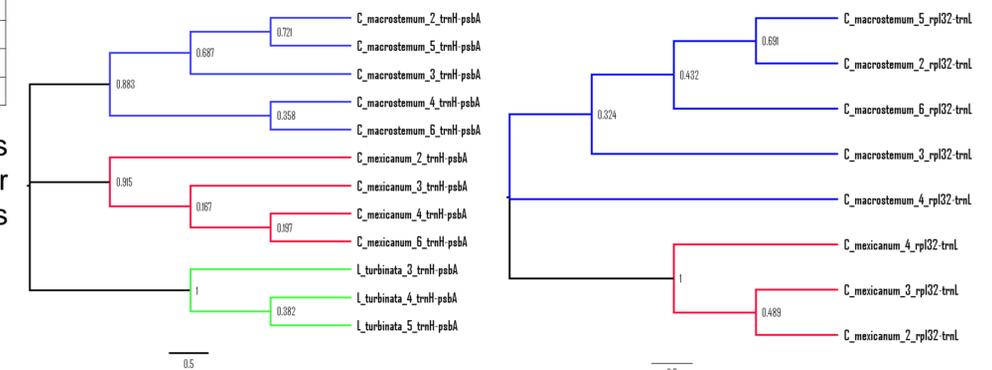


Figura 3.- Cladograma del marcador trnH-psbA. Alineación de la secuencia utilizando el algoritmo MUSCLE, construcción del árbol de máxima verosimilitud utilizando el modelo Tamura 3-parámetro. El número a un lado de cada nodo equivale al porcentaje de 1000 interacciones por el método Bootstrap.

Figura 4.- Cladograma del marcador rbcL. Alineación de la secuencia utilizando el algoritmo MUSCLE, construcción del árbol de máxima verosimilitud utilizando el modelo Tamura 3-parámetro. El número a un lado de cada nodo equivale al porcentaje de 1000 interacciones por el método Bootstrap.

En los cladogramas construidos para los marcadores moleculares ITS2, rbcL y trnH-psbA, se logra discriminar entre las tres especies evaluadas separándolas en clados diferentes (Figuras 1 - 3). Con el marcador molecular rpl32-trnL se logra discriminar a las especies del género *Clinopodium*, sin embargo, no se logró amplificar ninguna muestra para *L. turbinata* (Figura 4).

Conclusiones:

- Se aisló DNA de calidad y en una alta concentración, permitiendo la amplificación de los marcadores moleculares, a excepción de rpl32-trnL y las muestras de *L. turbinata*.
- Los cuatro marcadores moleculares utilizados lograron separar las especies a nivel de género; sin embargo, solo los marcadores trnH-psbA y rbcL lograron separar a nivel de especie, por lo que se propone que estos dos sean utilizados como código de barras molecular para diferenciar especies selectas del complejo poleo.