

ISBN: 970-27-0770-6

AVANCES EN LA EXTRACCIÓN DE ADN EN LA ESPECIE *Zea spp* EN EL LABORATORIO DE MARCADORES MOLECULARES DEL IMAREFI

Delia Erika Morales Padilla*
Martha Isabel Torres Morán¹
Moisés Martín Morales Rivera¹
José de Jesús Sánchez González¹
Anne Santerre²
Lino De la Cruz Larios¹

**¹Departamento de Producción Agrícola
Instituto de Manejo y Aprovechamiento de Recursos Fitogenéticos
²Departamento de Biología Celular y Molecular**

Introducción

El rápido avance de la genética molecular en los últimos años, ha constituido una herramienta de apoyo muy valiosa para el campo del manejo y conservación de los recursos fitogenéticos. En la actualidad se encuentran disponibles técnicas que permiten analizar diferencias en plantas existentes a nivel molecular y han demostrado su utilidad en la caracterización e identificación de partes específicas del genoma.

Con el desarrollo de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), surgieron numerosas técnicas, llamadas en forma genérica Marcadores Moleculares, que permiten la detección, caracterización y evaluación de los recursos fitogenéticos.

La obtención de ADN de buena calidad, es el primer paso para la aplicación de técnicas moleculares que persigan un fin específico, como es la caracterización de poblaciones del género *Zea spp*.

El objetivo del presente trabajo, es evaluar la calidad y cantidad de ADN obtenido de plantas del género *Zea spp* por tres métodos de extracción.

Materiales y metodos

Para realizar las extracciones se utilizaron dos líneas de maíz, una cruce simple y tres especies de teocintle (Figura 1), cultivadas en el campo experimental del CUCBA de la Universidad de Guadalajara.

Tabla 1. Plantas de la especie *Zea spp* utilizadas para la extracción de ADN

No. muestra	Materiales utilizados	
1	Línea UdG 14 (LUG 14)	Maíz
2	Línea UdG 03 (LUG 03)	Maíz
3	<i>Zea mays ssp. mexicana</i>	Teocintle
4	<i>Zea mays ssp. mexicana</i>	Teocintle
5	<i>Zea mays ssp. parviglumis</i>	Teocintle
6	<i>Zea mays ssp. parviglumis</i>	Teocintle
7	<i>Zea mays ssp. diploperennis</i>	Teocintle
8	Cruza simple LUG03xLUG14	Maíz

Se colectaron hojas jóvenes de plantas de cada uno de los materiales mencionados y se almacenaron en bolsas de plástico etiquetadas en congelador a -20°C para su posterior procesamiento.

Se utilizaron los métodos de extracción reportados por Clarke *et al.*, (1989), Saghai-Marooof *et al.*, (1984) y Keb-Llanes *et al.*, (2002) para la extracción. Se tomó muestra fresca de una planta de cada uno de los materiales para ser procesada por los tres métodos.

Se realizaron lecturas de absorbancia de las muestras con espectrofotómetro a una longitud de onda de 260 y 280 nm para calcular cantidad y calidad respectivamente. Para calcular la concentración de ADN en $\mu\text{g/ml}$ las muestras se diluyeron 1:200 en agua destilada, se realizaron las lecturas con espectrofotómetro Jenway 6305 UV/vis.

La cantidad del ADN en la muestra se obtuvo aplicando la fórmula:

$ADN_{(\mu\text{g/ml})} = (DO_{260})(FD)(50\mu\text{g/ml})$ donde DO = Densidad Óptica y FD = Factor de Dilución.

Se realizó electroforesis en geles de agarosa al 1% para obtener una aproximación de la concentración del ADN y determinar su integridad. Una banda bien definida en la parte superior del gel, a poca distancia de los puntos de aplicación, indica un ADN de alto peso molecular. Cuando se forma un barrido de fragmentos a lo largo del carril, es posible inferir si el material está parcialmente o altamente degradado.

Avances

Los resultados obtenidos en las primeras extracciones, se muestran en la siguiente tabla, donde pueden observarse las concentraciones calculadas para las muestras procesadas por los tres métodos.

Los resultados preliminares muestran que las concentraciones de ADN son mayores en las muestras obtenidas por el método de Clarke *et al* (1989).

Tabla 2. Concentración de ADN en las muestras de *Zea spp* extraído por tres métodos

	Concentración de las muestras ($\mu\text{g/ml}$)		
	Clarke	Shagai	Doyle
Línea UdG 14 (LUG 14)	1240	580	800
Línea UdG 03 (LUG 03)	1550	1140	1360
<i>Zea mays ssp. mexicana</i>	1300	1090	950
<i>Zea mays ssp. mexicana</i>	1790	1190	1120
<i>Zea mays ssp. parviglumis</i>	1490	1090	1220
<i>Zea mays ssp. parviglumis</i>	1880	1140	950
<i>Zea mays ssp. diploperennis</i>	1540	1910	1570
Cruza simple LUG03xLUG14	1510	1430	1240
PROMEDIOS	1537.5	1196.25	1151.25