



APROXIMACIONES BIOTECNOLÓGICAS PARA LA MANIPULACIÓN GENÉTICA DE CAOBA (*Swietenia macrophylla*) Y PRIMAVERA (*Tabebuia donell-smithii*).

Abadesa C. Gregorio Martínez, Aura A. Robles Mendoza, Luis A. Gutiérrez Andriano, Timoteo Rodríguez López, Alejandro G. Nila Méndez, Elizabetha Hernández Domínguez, José A. González Rodríguez, Yuri J.J. Peña Ramírez. Unidad de Investigación de Biotecnología Vegetal. Instituto Tecnológico Superior de Acayucan. Carretera Costera del Golfo Km. 216.4 Col. Agrícola Michapa. Acayucan, Veracruz. Tel/Fax: 01 924 24 574 10, email: unibve@itsacayucan.edu.mx

Palabras clave: ADN, cloroplasto, PCR

Introducción. México cuenta con un 70% de superficie forestal. En el estado de Veracruz, existen 115 especies maderables que están siendo desaprovechadas. Entre estas especies se encuentran la caoba (*Swietenia macrophylla*) y la primavera (*Tabebuia donell-smithii*), las cuales son apreciadas por la calidad de su madera (ver Fig.1. A y C) (1). Junto con técnicas de micropropagación *in vitro*, nuestro grupo de investigación trabaja en la elaboración de construcciones para la transformación genética cloroplastídica de estas especies forestales.

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo consiste en la clonación de productos de amplificación de la zona *rrn16S* a la zona *rrn23S* de la región IR (repetido inverso) del ADN cloroplastídico de *Swietenia macrophylla* y *Tabebuia donell-smithii* para su posterior utilización en la construcción de vectores de transformación plastídica.

Metodología. Se realizó una colecta de materiales biológicos y posteriormente se procedió a la extracción y purificación del ADN cloroplastídico (ADNcl) de acuerdo a lo reportado por Daniell *et al* (2). En un gel de agarosa, se observó la integridad de las muestras de ADNcl obtenidas. Para cada especie, su respectivo ADNcl se utilizó como templado para la optimización de reacciones tipo PCR cuyos productos fueran amplificaciones parciales de la región IR del ADN cloroplastídico. Las reacciones de PCR y otras técnicas moleculares se realizaron utilizando protocolos estándares reportados en la literatura (3).

Resultados y discusión. Se tomaron muestras de hojas de caoba y primavera para la extracción de ADNcl (ver Fig.1. B y D). La visualización del ADN cloroplastídico se observó de acuerdo a lo esperado: una banda discreta de alto peso molecular (2). Sin embargo, el rendimiento de ADNcl de caoba fue más bajo en comparación con el de la primavera (ver Fig.2. A y B). Para la obtención de productos de amplificación de regiones parciales IR, se realizó una matriz experimental en la que se utilizaron seis diferentes pares de cebadores a tres temperaturas de alineamiento (51.5 °C, 59.0 °C y 65.0 °C) (ver Fig.2. C y D). Basándonos en otros genomas cloroplastídicos secuenciados, el tamaño esperado de estos productos de amplificación era entre 2 Kpb y 4 Kpb; este dato

concordó con los tamaños obtenidos experimentalmente (ver Fig.2. C y D). Actualmente, estamos trabajando en la clonación y secuenciación de estos productos.

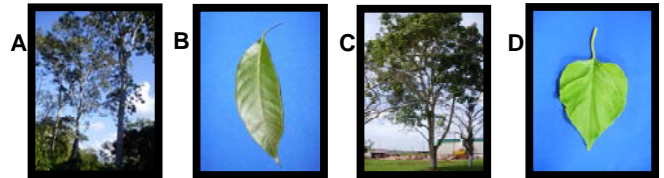


Fig.1. Árboles de maderas finas que son desaprovechadas en el estado de Veracruz. A. Árbol de caoba. B. Hoja de caoba. C. Árbol de primavera. D. Hoja de primavera.

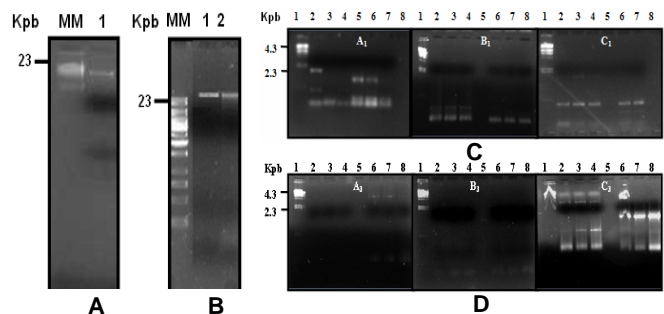


Fig.2. Evaluación de ADN cloroplastídico y amplificación parcial de la región IR. A. ADNcl de caoba. B. ADNcl de primavera. C. Optimización de PCR para caoba. D. Optimización de PCR para primavera.

Conclusiones. Se obtuvo ADNcl de las especies forestales de caoba y primavera. Del ADNcl de cada una de las dos especies trabajadas se obtuvieron productos de amplificación por PCR utilizando cebadores específicos a la región IR cloroplastídica.

Agradecimiento. Proyecto Ciencia Básica de Fondo Institucional SEP-CONACYT 2006-53851-C01.

Bibliografía.

- Veríssimo, A., Barreto, P., Tarifa, R. y Uhl, C. (1995). Extraction of a high-value natural resource in Amazonia: the case of mahogany. *Forest Ecol. Manage.* 72 (1): 39-60.
- Daniell, H., Datta, R., Varma, S., Gray, S. y Lee, S.B. (1998). Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome. *Nat. Biotechnol.* 16: 345-348.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, NY, USA.