



## AISLAMIENTO DE UNA SECUENCIA PARCIAL DE ACC OXIDASA INVOLUCRADA EN LA MADURACIÓN DE *Psidium guajava*.

Aleyna De la Luz Monroy, Héctor Silos Espino, Luis Lorenzo Valera Montero, Silvia Flores Benítez, Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Aguascalientes, 20250, [aleyna.monroy@gmail.com](mailto:aleyna.monroy@gmail.com)

*Extracción de ARN, Psidium guajava, ACC oxidasa.*

### Introducción

La guayaba en México es un fruto de importancia económica por su consumo tanto en fresco como procesado. Es un fruto climatérico, donde el etileno coordina numerosas vías metabólicas esenciales en la maduración, provocando un incremento en los niveles de enzimas hidrolíticas que reblandecen los tejidos, un aumento en la velocidad de respiración y la modificación de la pigmentación (1), lo que interfiere con la calidad del fruto poscosecha. La ACC oxidasa es la enzima clave que interviene en el último paso de la conversión de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) a etileno (2). Por tanto la modulación o silenciamiento de la actividad de dicha enzima podría alterar la cantidad de etileno producido y con ello el proceso de maduración (3).

En este trabajo se planteó como objetivo aislar un fragmento de ADNc de ACC oxidasa involucrada en el proceso de maduración de frutos de guayaba mediante la técnica de RT-PCR.

### Metodología

La extracción de ARN total se llevó a cabo en frutos en diferentes estados de maduración mediante un método reportado para frutos ricos en polisacáridos (4), la síntesis de ADNc se realizó a partir de 100 ng de ARN total utilizando el *kit* Affinity Script cDNA synthesis (Stratagene). La PCR fue realizada con el *kit* Go Taq® Green Master Mix (Promega) con oligonucleótidos degenerados diseñados en base secuencias conservadas de ACC oxidasas en plantas (5).

### Resultados

Se logró extraer ARN de calidad para la síntesis de cDNA. Mediante PCR se amplificaron dos fragmentos de 1050 y 750 pb, respectivamente (Fig. 1). Los productos de 750 pb fueron purificados y secuenciados. El análisis en el programa bioinformático BLAST, mostró una similitud de 92 y 93 % de esta secuencia aislada de *P. guajava* L. de Calvillo, Aguascalientes con otras secuencias de ACC oxidasa reportadas para frutos de guayaba, y una similitud menor (del 74 al 87 %) con secuencias de ACC oxidasas de otros modelos vegetales, lo que hace inferir que se trata de un fragmento del gen que codifica para ACC oxidasa en guayaba.



**Fig. 1.** Resultado de PCR con oligonucleótidos degenerados. Carril 1: fruto verde; Carril 2 y 3: fruto maduro; Carril 4: control negativo y Carril 5: fruto verde. M: marcador de peso molecular (Kb DNA Ladder Agilent®).

**Conclusiones.** Los resultados revelan secuencias parciales de ADNc para el gen de la proteína ACC oxidasa en *Psidium guajava*, las cuales pueden ser usadas para análisis de expresión génica o el diseño de estrategias que mejoren atributos de calidad en vida de anaquel y con ello, la reducción de costos del manejo poscosecha.

**Agradecimiento.** Agradecemos a los productores de Calvillo, Aguascalientes por las facilidades brindadas para la colecta de las muestras.

### Bibliografía

- Morales-Domínguez J, Reyes-Silva A, Núñez-Palenius H, Hernández-Guzmán G, Alpuche-Solis A y Garcidueñas-Piña C. (2013). ADNc relacionados con la maduración del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Rev. Fitotec. Méx.* Vol. 36(2): 117-125
- Giovannoni, J. (2001). Molecular Biology and fruit maturation and ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52: 725-749
- De la Cruz J, Vela G, Dorantes L y García H. (2010). Efecto del etileno sobre el ACC y el ACC oxidasa en la maduración de papaya "Maradol". *Rev. Fitotec. Mex.* 33:133-140.
- López-Gómez R y Gómez-Lim M. (1992). A method for extracting intact RNA from fruits rich in polysaccharides using ripe mango mesocarp. *Hort Science.* 27(5): 440-442.
- Agüero G, Rodríguez E, Díaz L, Bacallao N y Jiménez E. (2003). Aislamiento de un fragmento del ADNc ACC Oxidasa expresado durante la maduración del fruto de Guayaba Enana. *Biotecnología Vegetal.* 3(2):187-189.