



USO DE LAS REGIONES ESPACIADORAS TRANSCRITAS INTERNAS (ITS's) PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MATERIALES SILVESTRES DEL GÉNERO *Rubus* sp.

Javier Mora Macías³, Abraham García Chávez¹, Andrés Cruz Hernández²,
Octavio Paredes López² y Pedro Antonio García Saucedo³.

¹Instituto de Investigaciones Químico Biológicas

²CINVESTAV-IPN, Departamento de Biotecnología y Bioquímica Unidad Irapuato

³Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" UMSNH.

Paseo Lázaro Cárdenas s/n esq. Berlín. Col. Zapata C.P. 60190

garsapan@hotmail.com

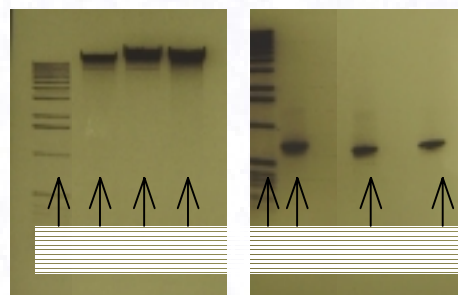
Palabras clave: *Rubus*, espaciadores transcritos internos, zarzamora

Introducción. La zarzamora (*Rubus* sp.) tiene un alto potencial como producto frutícola gracias a sus propiedades agronómicas, nutricionales y medicinales. En el estado de Michoacán se han colectado diversas especies silvestres de zarzamora. Estos materiales están adaptados a las condiciones agroclimáticas de la región y pueden ser fuente genética para crear nuevas variedades que compitan con las comerciales. Sin embargo las especies del género *Rubus* se encuentran altamente influenciadas por el ambiente provocando un elevado polimorfismo, lo cual genera una problemática para la ubicación taxonómica de los integrantes de este género.

A razón de este problema en el presente trabajo se establecieron las bases para la identificación molecular de materiales silvestres del género *Rubus* a través de la amplificación de los espaciadores transcritos internos (ITS,s).

Metodología. En la región de Uruapan Michoacán se colectaron tres materiales silvestres del género *Rubus*, denominados como "Glabra" (G), "Velloso" (V) y "Velloso Pinta" (VP), estos materiales fueron sometidos a diferentes técnicas de extracción de DNA con variaciones a lo reportado por Doyle y Doyle (1990) y por Henry (1997). El DNA obtenido se utilizó para amplificar por PCR la región de los espaciadores transcritos internos (ITS,s) utilizando los oligonucleótidos ITS1 e ITS4 y realizando variaciones en el programa de amplificación.

Resultados y discusión. De las diferentes técnicas que se utilizaron para la propuesta por Doyle y Doyle permitieron obtener mayor rendimiento de DNA extraído (por gramo de tejido) siendo este de buena calidad para la amplificación de los ITS,s. (Fig 1a).



a)

b)

Fig. 1. DNA extraído utilizando el protocolo de Doyle Doyle 1990. (a) y amplificación de fragmentos genómicos por ITS,s de materiales silvestres del género *Rubus* (b). Velloso (V); Glabra (G); Velloso pinta (VP) y marcador de una kilobase (KB).

La amplificación del material genético se logró con el siguiente programa: 96 °C/1Min, 40 ciclos a 96 °C/1Min, 40 °C/1Min y 72 °C/2Min (desnaturalización, alineamiento y extensión respectivamente) y una extensión final a 72 °C/10Min. Los fragmentos amplificados oscilaron entre 650 y 700 pb, (Fig. 1b). Estos resultados permiten sugerir en base a lo reportado en la literatura que las secuencias amplificadas podrían pertenecer a DNAr, ya que el tamaño de los ITS's del género *Rubus* suele variar entre 600 a 700 pb.

Conclusiones. Finalmente, con los datos presentados se concluye que se logró establecer un protocolo general para la extracción y amplificación de DNA genómico de especies del género *Rubus*.

Bibliografía

- (1) Doyle, J. J. y Doyle, J. L. 1990. *Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15*
- (2) Henry, RJ. 1997. *Useful routine protocols in plant molecular biology. En: Practical application of plant molecular biology. Chapman y Hall, London, UK. Pp. 178-180.*