

## DESARROLLO DE MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN MOLECULAR DE SECUENCIAS DE ADN EN GRANOS DE MAÍZ Y PRODUCTOS DERIVADOS

Javier Plasencia<sup>2</sup>, Fabiola Jaimes<sup>2</sup>, Maricarmen Quirasco<sup>1</sup> y Amanda Gálvez<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Depto. de Alimentos y Biotecnología, <sup>2</sup>Depto. de Bioquímica, Facultad de Química,  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Circuito de la Investigación Científica. Cd. Universitaria. México, D.F. 04510  
Fax: (52) (5) 6 22 53 29, e-mail: galvez@servidor.unam.mx

Palabras clave: maíz transgénico, alimentos transgénicos, detección de transgenes.

**Introducción.** En el mercado se encuentra una variedad de plantas modificadas genéticamente (*MG*), que han sido aprobadas para cultivo comercial, como los tomates de maduración retardada, algodón resistente a insectos y tolerante a herbicidas, soya tolerante a herbicidas y maíz resistente a insectos. En México, como en otros países, se discute aún la inocuidad, la reglamentación y el etiquetado e identificación de los alimentos que se producen con los cultivos *MG*. En nuestro país se cultivan a nivel semi-comercial algodón y soya *MG*. No se cultiva maíz *MG* por razones ecológicas, debido al impacto sobre las variedades criollas mexicanas de un posible escape de genes a través de polen (1). El maíz importado por las cuotas del TLC proviene de los EEUU, que no segrega los granos *MG*, por lo que resulta importante identificarlos, así como a los alimentos derivados de éstos. Nos interesa desarrollar métodos específicos, sensibles y prácticos para detectar transgenes, con particular interés en los productos nixtamalizados; éstos serán útiles para algunas empresas nacionales que exportan a países de la Unión Europea, en donde se exige un etiquetado y un valor menor al 1% de ingredientes *MG*. El método de elección para la detección rápida de estos transgenes es la reacción en cadena de polimerasa (PCR) con cebadores dirigidos contra secuencias del promotor y terminador del transgén. Un primer obstáculo para la aplicación general de este método es la obtención del ADN molde. Por lo que el objetivo de este trabajo consiste en desarrollar un sistema de extracción de ADN de calidad apropiada a partir de granos de maíz y de alimentos derivados para posteriormente detectar un gen endógeno y así verificar la calidad del ADN extraído. Así mismo, se realizaron pruebas con sondas específicas para detectar secuencias transgénicas.

**Metodología.** Método para extraer ADN de granos individuales de maíz: el embrión se extrajo manualmente, se pulverizó con N<sub>2</sub> líquido y el ADN se extrajo utilizando el reactivo DNAzol<sup>TM</sup> (GIBCO-BRL) según un método modificado al descrito por el fabricante. Extracción de ADN de alimentos derivados de maíz: éstos se secaron y se pulverizaron dentro de un tubo Eppendorf (aprox. 30-40 mg) y el ADN se extrajo con el reactivo DNAzol<sup>TM</sup>. La cantidad de ADN extraída fue muy baja y no se pudo observar en un gel teñido con bromuro de etidio. Sin embargo, se comprobó la presencia y la integridad parcial del ADN al amplificar por PCR un fragmento del gen RPA-1 (Replication protein-A de maíz) de 300 pb.

**Resultados y Discusión.** Utilizando la metodología descrita se logró extraer ADN de los siguientes productos: frituras de maíz, maíz dulce enlatado, maíz orgánico enlatado, fécula de maíz, tostada de maíz, así como de tortillas obtenidas de distintas fuentes. A partir del ADN extraído de todas las muestras de maíz se pudo amplificar el fragmento de ADN de 300 pb usado como estándar interno. (Fig. 1).

Fig. 1. Amplificación del fragmento de 300 pb del gen RPA-1 de maíz usando ADN aislado de: 40 mg de frituras de maíz (Carril 1); 100 mg de frituras de maíz (Carril 2); 40 mg de harina de maíz Carril 4); 40 mg de tortilla (carril 5). En el carril 3 se cargó marcador de tamaño, (escala de 100 pb) y el carril 6 el producto de reacción de PCR en ausencia de molde, como control negativo.

**Conclusiones.** Este método de extracción permitió obtener, a partir de una pequeña cantidad de muestra o de una sola semilla de maíz, ADN en cantidad y calidad suficiente para amplificar productos de por lo menos 300pb. Este método se puede emplear para la detección de secuencias comunes en los transgenes como son el promotor (195 pb), la señal de terminación (180 pb) o secuencias específicas de algún transgén en particular.

**Agradecimiento.** Este trabajo ha sido financiado por la Fac. de Química a través del Programa de Apoyo a la Investigación y Posgrado (PAIP).

### Bibliografía

1. Arriola, P.E..(2000) Flujo genético de plantas cultivadas a silvestres y riesgo de liberación en gran escala del maíz transgénico en México. *Memoria. Taller de maíz transgénico*. NAPPO, DGSV, CNBA Ciudad de México, 13-16 Oct. 1997. Pp. 1-7.

