

## PROTOCOLO PARA INCREMENTAR LA CALIDAD Y CONCENTRACIÓN DE ARN A PARTIR DE UNA SEMILLA DE FRIJOL.

### EXTRACCIÓN, ACIDO RIBONUCLEICO (ARN), *Phaseolus vulgaris* L.

**1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA.** La innovación consiste en la implementación de un protocolo que incremente la calidad y cantidad de ARN, extraído a partir de una semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), que facilite el análisis de la expresión génica bajo diferentes condiciones.

**2. PROBLEMA, OPORTUNIDAD, NECESIDAD A RESOLVER.** El cultivo de frijol es el segundo en importancia después del maíz, en la alimentación de los mexicanos. Se siembra en 1,590,876 ha, de las cuales 85.5% se cultiva bajo condiciones de temporal. De esta manera, el ciclo del cultivo de frijol, es dependiente de las condiciones edafoclimáticas. Desde el punto de vista de la biotecnología, la semilla de frijol es difícil de manejar a nivel postcosecha, ya que, después del corte inicia el proceso de senescencia que promueve la degradación de ácidos nucleicos, principalmente el ARN. Actualmente, existen para la extracción de ácidos nucleicos de semillas de frijol, protocolos comerciales que ofrecen resultados muy limitados y no garantizan una concentración de ARN suficiente para análisis de fenotipo. Es por ello, que se requiere de un protocolo de extracción que permita la obtención de ARN de calidad y en las concentraciones adecuadas para realizar investigación de expresión génica.

**3. RESULTADOS OBTENIDOS POR LOS PRODUCTORES AL UTILIZAR LA TECNOLOGÍA.** Se realizó un curso-taller donde se utilizaron semillas de frijol de tres variedades diferentes, para extraer ARN con el protocolo generado en el INIFAP-CEZAC, y el protocolo de Becker fue utilizado como referencia. La calidad y pureza de ARN se midió por densidad óptica. El método utiliza una relación de absorbancia (260/280 nm) y se usan como referencia de buena calidad valores entre 1.8 y 2.0 nm. Los resultados obtenidos fueron valores promedio de 1.85 nm y 1,726 ng/μL para la variedad Pinto Saltillo, 1.96 nm y 1,854 ng/μL para la variedad Frijozac 101 y de 1.93 nm y 2, 583 ng/μL para la variedad Flor de junio Dalia. Los valores de absorbancia obtenidos por el método INIFAP-CEZAC están dentro del rango de referencia, pero la cantidad de material genético alcanzado es mayor al obtenido con el protocolo de Backer, ya que con éste se obtuvieron valores de 2.15 nm y 1,258 ng/μL para la variedad Pinto Saltillo, 1.79 nm y 896 ng/μL para la variedad Frijozac 101 y de 1.83 nm y 1,107 ng/μL para la variedad Flor de junio Dalia. Esta técnica genera un

incremento en las concentraciones ARN de calidad a partir de una sola semilla de frijol, lo que lleva a tener mejores procesos técnicos en las investigaciones de expresión genética, obteniendo mejores resultados.

**4. APOYOS RECIBIDOS POR LOS PRODUCTORES PARA PROMOVER SU ADOPCIÓN.** Esta tecnología fue puesta disposición de técnicos de laboratorio como una técnica de apoyo a proyectos de investigación de expresión genética. Al ser una tecnología de laboratorio, no hubo ningún tipo de apoyo sectorial.

**5. SOPORTE DOCUMENTAL DE LA ADOPCIÓN.** Los datos que se obtuvieron de calidad y concentración del ARN de semilla de frijol, se encuentran en el informe semestral del proyecto de Recursos Genéticos: "Semillas Ortodoxas Informe técnico final 2016 del proyecto del programa de Recursos Genéticos: "Semillas Ortodoxas", y listas de asistencia del curso-taller "Extracción de ARN de alta calidad y cantidad a partir de una sola semilla de frijol".

**6. VINCULACIÓN ACTUAL Y REQUERIDA.** Con el Sistema Producto Frijol, Comité de Sanidad Vegetal, Laboratorios de Centros Biotecnológicos, Centros de Investigación y Universidades para estudios expresión génica de proteínas de interés, ya sea en el ámbito de salud, mejoramiento genético, valor agregado o productivo del Sistema Producto Frijol.

**7. APLICACIÓN POTENCIAL A PROGRAMAS DE DESARROLLO.** Se requieren cursos de capacitación específica en cuanto a manejo de las técnicas de extracción de ARN. Esta técnica puede ser utilizada en Laboratorios de investigación de Universidades o de Institutos de Investigación que involucren estudios genéticos.

#### Mayor información

**Dr. Luis Roberto Reveles Torres<sup>1</sup>**

**Dra. Silvia Salas Muñoz<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Km 21.5 Carr Zac-Fnllo, Calera de V.R. Zac. CP. 98500

<sup>2</sup>CONACYT-INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Km 21.5 Carr Zac-Fnllo, Calera de V.R. Zac. CP. 98500

Tel 55-38-71-87-00 Ext. 82329

[reveles.roberto@inifap.gob.mx](mailto:reveles.roberto@inifap.gob.mx)

[silviasm0207@gmail.com](mailto:silviasm0207@gmail.com)

<http://www.inifap.gob.mx>

Programa: Recursos Genéticos

Proyecto: Semillas Ortodoxas

Fuente financiera: Fiscales.

[www.inifap.gob.mx](http://www.inifap.gob.mx)

## Ventajas comparativas

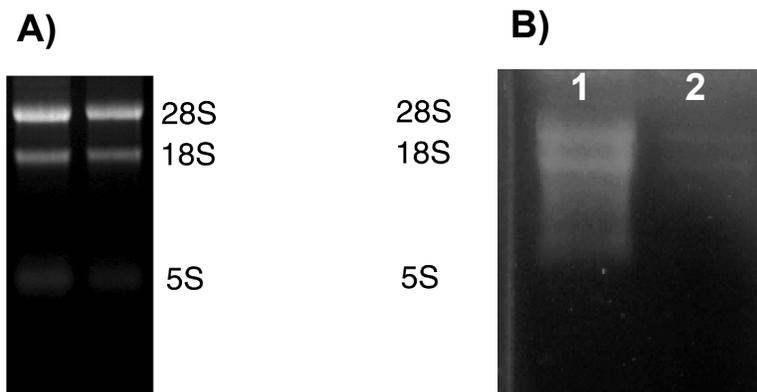


Figura 1. A) Visualización de las subunidades ribosomales 28S, 18S y 5S del ARN de planta. B) Gel de calidad de la extracción de ARN de una semilla de frijol mediante dos protocolos. (1) ARN mediante la extracción con el protocolo generado en el INIFAP-CEZAC, (2) ARN mediante la extracción con el protocolo de Becker y col 1995.

## **PROTOCOLO PARA INCREMENTAR LA CALIDAD Y CONCENTRACIÓN DE ARN A PARTIR DE UNA SEMILLA DE FRIJOL.**

### **EXTRACCIÓN, ACIDO RIBONUCLEICO (ARN), *Phaseolus vulgaris* L.**

**1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA.** La innovación consiste en la generación de un protocolo que incremente la calidad y cantidad de ARN, extraído a partir de una semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), facilitando el análisis de la expresión génica bajo diferentes condiciones.

**2. PROBLEMA, OPORTUNIDAD, NECESIDAD A RESOLVER.** El cultivo de frijol es el segundo en importancia después del maíz, en la alimentación de los mexicanos. Se siembra en 1,590,876 ha, de las cuales 85.5% se cultiva bajo condiciones de temporal. De esta manera, el ciclo del cultivo de frijol, se hace dependiente de las condiciones climáticas. Además, la semilla de frijol es difícil de manejar desde el punto de vista de la biotecnología debido a que una vez que son cosechadas, se promueve la degradación de ácido nucleicos, principalmente el ARN. Actualmente, existen para la extracción de ácidos nucleicos de semillas de frijol, protocolos comerciales que ofrecen resultados muy limitados en cuanto a la concentración de ARN. Es por ello, que se requiere de un protocolo de extracción que facilite la obtención de ARN de calidad y en las concentraciones adecuadas para realizar experimentos de expresión génica.

**3. MECANISMOS DE TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA.** La tecnología fue transferida en el curso-taller “Extracción de ARN de alta calidad y cantidad a partir de una sola semilla de frijol”, realizado en la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

**4. SOPORTE TÉCNICO DE LA TRANSFERENCIA.** Informe técnico final 2016 del proyecto del programa de Recursos Genéticos: “Semillas Ortodoxas”, y listas de asistencia del curso-taller “Extracción de ARN de alta calidad y cantidad a partir de una sola semilla de frijol”.

**5. RESULTADOS OBTENIDOS DE LA TRANSFERENCIA.** En el curso-taller se utilizaron semillas de frijol de tres variedades diferentes, a las cuales se les extrajo ARN con el protocolo generado en el INIFAP-CEZAC, y el protocolo de Becker utilizado como referencia. La calidad y pureza de ARN se midió con base en la absorbancia de la relación 260/280 nanómetros (nm), siendo como norma de buena calidad

valores entre 1.8 y 2.0 nm. Los resultados obtenidos fueron valores promedio de 1.85 nm y 1,726 ng/μL para la variedad Pinto Saltillo, 1.96 nm y 1,854 ng/μL para la variedad Frijozac 101 y de 1.93 nm y 2,583 ng/μL para la variedad Flor de junio Dalia. Estos valores están muy por encima de los resultados obtenidos con el protocolo de Backer, ya que con este protocolo se obtuvieron valores de 2.15 nm y 1,258 ng/μL para la variedad Pinto Saltillo, 1.79 nm y 896 ng/μL para la variedad Frijozac 101 y de 1.83 nm y 1,107 ng/μL para la variedad Flor de junio Dalia.

**6. AGENTES DE CAMBIO ATENDIDOS.** La transferencia se realizó en la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas en un taller realizado el 7 y 8 de noviembre del 2019, donde participaron los investigadores Rosa Gabriela Reveles Hernández, Luz Elena Vidales Rodríguez, David Alejandro García, Sergio Hugo Sánchez Rodríguez, y los técnicos asistentes Iliana Noemí Quiroz Serrano y Kevin Saúl Ramírez Dávila, pertenecientes al Laboratorio de Bioquímica Molecular.

**7. SOPORTE DOCUMENTAL.** Los datos que se obtuvieron de calidad y concentración del ARN de semilla de frijol, se encuentran sólo en el informe semestral del proyecto de Recursos Genéticos: “Semillas Ortodoxas”.

**8. VINCULACIÓN ACTUAL Y REQUERIDA.** Con el Sistema Producto Frijol, Comité de Sanidad Vegetal, Laboratorios de Centros Biotecnológicos, Centros de Investigación y Universidades para estudios expresión génica de proteínas de interés, ya sea en el ámbito de salud, mejoramiento genético, valor agregado o productivo del Sistema Producto Frijol.

#### **Mayor información**

**Dr. Luis Roberto Reveles Torres<sup>1</sup>**

**Dra. Silvia Salas Muñoz<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Dirección: Km 24.5 Carretera Zac-Fresnillo. Calera, Zac. 98500

<sup>2</sup>CONACYT-INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Dirección: Km 24.5 Carretera Zac-Fresnillo. Calera, Zac. 98500

Tel 01 800 088 22 22 Ext. 82329

[reveles.roberto@inifap.gob.mx](mailto:reveles.roberto@inifap.gob.mx)

[silviasm0207@gmail.com](mailto:silviasm0207@gmail.com)

<http://www.inifap.gob.mx>

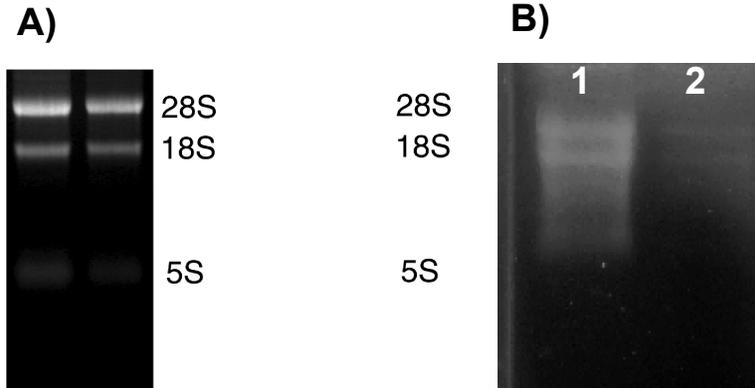
Programa: Recursos Genéticos

Proyecto: Semillas Ortodoxas

Fuente financiera: Fiscales.

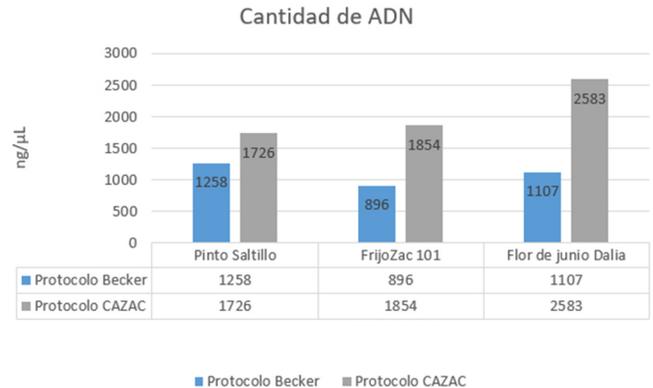
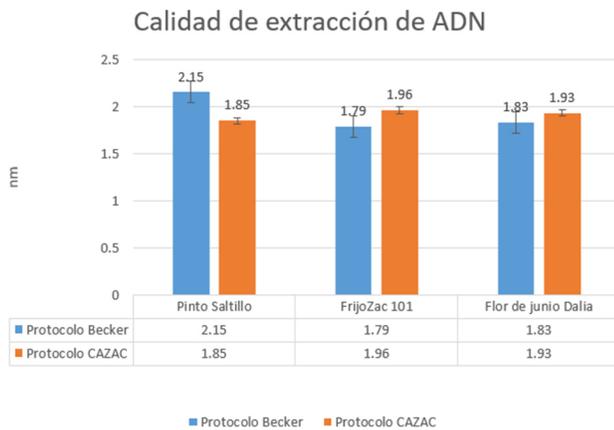
[www.inifap.gob.mx](http://www.inifap.gob.mx)

### Ventajas comparativas



**Figura 1. A) Visualización de las subunidades ribosomales 28S, 18S y 5S del ARN de planta. B) Gel de calidad de la extracción de ARN de una semilla de frijol mediante dos protocolos. (1) ARN mediante la extracción con el protocolo generado en el INIFAP-CEZAC, (2) ARN mediante la extracción con el protocolo de Becker y col 1995.**

### Ventajas comparativas de los datos de transferencia



## PROTOCOLO PARA INCREMENTAR LA CALIDAD Y CONCENTRACIÓN DE ARN A PARTIR DE UNA SEMILLA DE FRIJOL

EXTRACCIÓN, ACIDO RIBONUCLEICO (ARN), *Phaseolus vulgaris* L.

**1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA.** La innovación consistió en el desarrollo de un protocolo que incrementa la calidad y cantidad de ARN (ácido ribonucleico) extraído a partir de una semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Con ello se facilita el análisis de la expresión génica bajo diferentes condiciones ambientales.

**2. PROBLEMA, OPORTUNIDAD, NECESIDAD A RESOLVER.** La extracción del ARN es un problema metodológico y económico importante en estudios de expresión génica en frijol cultivado en condiciones ambientales diferentes. Lo anterior, derivado del contenido alto de polisacáridos y almidones, los cuales interfieren en la cantidad y la calidad del ARN extraído de la semilla. Además, las semillas de frijol son difíciles de manejar en el laboratorio de biotecnología, debido a que una vez que son cosechadas se observa degradación de los ácidos nucleicos, principalmente el ARN. Existen protocolos comerciales, de costo alto, que ofrecen resultados limitados en cuanto a la eficiencia en la extracción y concentración del ARN obtenido. El protocolo INIFAP, se ha validado, dando como resultado la obtención de ARN de calidad (limpieza del bandeado) y en las concentraciones adecuadas (valores de entre 1,800 y 2,000 ng/μl) para realizar experimentos de expresión génica, ARN de interferencia y otros estudios de biología molecular.

**3. RESULTADOS OBTENIDOS DE LA VALIDACIÓN.** El 20 de septiembre de 2017, se validaron tres técnicas de extracción de ARN a partir de semilla única en frijol, en un estudio por triplicado. La primera extracción fue con el producto comercial RNA Plant Reagent (ThermoFisher®), el segundo con el protocolo Becker, y el tercero mediante la extracción con el protocolo generado en el INIFAP-CEZAC. La calidad y pureza de ARN se midió con base en la absorbancia de la relación 260/280 nanómetros (nm), siendo esta de buena calidad, con valores entre 1.8 y 2.0 nm. Con el producto comercial, se obtuvo un promedio de 1,726 ng/μL, con una absorbancia de 1.88. En el caso del protocolo Becker los resultados fueron 1916 ng/μL y absorbancia de 1.86. Finalmente, con el protocolo INIFAP, se obtuvo una concentración de 2,583 ng/μL con una absorbancia de 2.02. Con ello, se corroboró la eficiencia alta del protocolo INIFAP, en comparación con los otros dos validados.

**4. RECOMENDACIÓN PARA SU USO.** Para programas de frijol, utilizando la expresión diferencial de genes, como criterio de selección de líneas y variedades con tolerancia a diferentes tipos de estrés biótico y abiótico.

La implementación de la tecnología requiere de un laboratorio de Biología Molecular.

**5. INFORMACIÓN DE LA VALIDACIÓN.** La validación se realizó en la Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas en un taller realizado el 20 de septiembre donde participaron el Dr. Sergio Hugo Sánchez Rodríguez (Responsable del Laboratorio de Biología Molecular), Rosa Gabriela Reveles Hernández y Rosa María Ramírez (Docentes-Investigadores), David Delgado Ávila, Palomo Enríquez Gutiérrez, Sayra Nallely Valdez Reyes, Víctor Hugo Rubio Medina Y Jonatan Rosalio Santamaría Tovar (Técnicos de laboratorio).

**6. SOPORTE TÉCNICO DE LA VALIDACIÓN.** La tecnología validada se documentó en el curso-taller "Nuevo protocolo para incrementar la calidad y concentración de ARN a partir de una sola semilla de frijol", realizado en la misma Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la UAZ.

**7. ÁMBITO DE APLICACIÓN.** La técnica puede ser utilizada en cualquier programa de genética y mejora de frijol a nivel mundial.

**8. USUARIOS POTENCIALES.** Sistema Producto Frijol, Centros de Investigación y Universidades.

**9. COSTO ESTIMADO.** El costo con el protocolo comercial es de \$430.00 por semilla de frijol. El costo aproximado con el protocolo de Becker y colaboradores es de \$320.00, mientras que con este protocolo es de \$250.00 por semilla.

**10. SOPORTE DOCUMENTAL.** Los datos que se obtuvieron de calidad y concentración del ARN de semilla de frijol, se encuentran en el informe semestral del proyecto de Recursos Genéticos: "Semillas Ortodoxas".

**11. PROPIEDAD INTELECTUAL.** Es factible generar una patente para este protocolo de laboratorio, e iniciar con las actividades para su realización.

### Mayor información:

Para mayor información dirigirse a:

**Dr. Luis Roberto Reveles Torres<sup>1</sup>**

**Dra. Silvia Salas Muñoz<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Dirección: Apartado Postal 18. Calera, Zac. 98500

<sup>2</sup>CONACYT-INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Dirección: Apartado Postal 18. Calera, Zac. 98500  
Tel 01 800 088 22 22 Ext. 82329

[reveles.roberto@inifap.gob.mx](mailto:reveles.roberto@inifap.gob.mx)  
[silviasm0207@gmail.com](mailto:silviasm0207@gmail.com)  
<http://www.inifap.gob.mx>

Programa: Recursos Genéticos  
Proyecto: Semillas Ortodoxas SIGI: 92252335  
Fuente financiera: Fiscales.  
[www.inifap.gob.mx](http://www.inifap.gob.mx)

## Ventajas comparativas

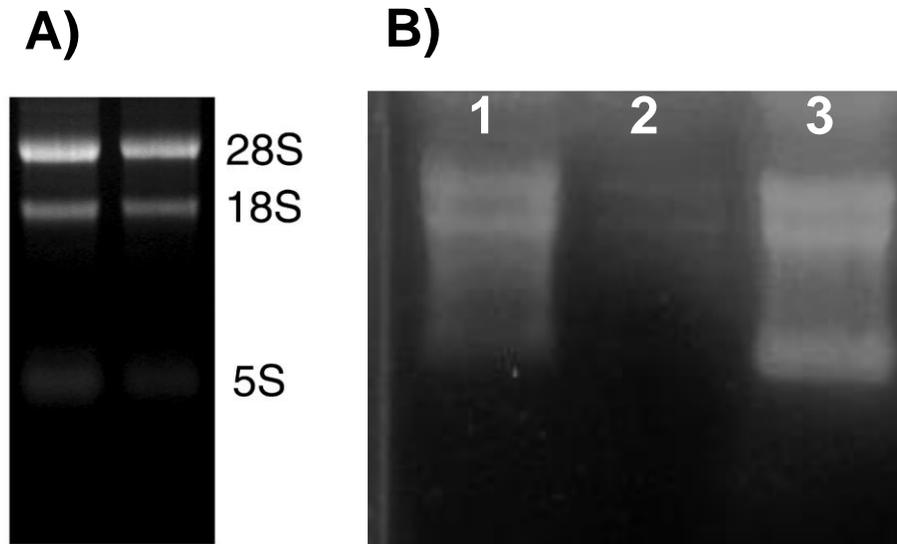


Figura 1. A) Visualización de las subunidades ribosomales 28S, 18S y 5S del ARN de planta. B) Gel de calidad de la extracción de ARN de una semilla de frijol mediante tres protocolos. (1) ARN mediante la extracción con el protocolo comercial, (2) ARN mediante la extracción con el protocolo de Becker y col 1995 y (3) ARN mediante la extracción con el protocolo generado en el INIFAP-CEZAC.

## PROTOCOLO PARA INCREMENTAR LA CALIDAD Y CONCENTRACIÓN DE ARN A PARTIR DE UNA SEMILLA DE FRIJOL

EXTRACCIÓN, ACIDO RIBONUCLEICO (ARN), *Phaseolus vulgaris*, L.

**1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA.** La innovación consiste en un protocolo que incrementa la calidad y cantidad de ácido ribonucleico (ARN), extraído a partir de una semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), facilitando el análisis de la expresión génica bajo diferentes condiciones.

**2. PROBLEMA, OPORTUNIDAD, NECESIDAD A ATENDER.** El cultivo de frijol es el segundo en importancia en la alimentación de los mexicanos, después del maíz. Se siembra en 1,590,876 ha, de las cuales 85% se cultiva bajo condiciones de temporal. La semilla de frijol es difícil de manejar desde el punto de vista de la biotecnología, debido a que una vez cosechada, se promueve la degradación de los ácidos nucleicos, principalmente el ARN. Actualmente existen protocolos comerciales para la extracción de ARN de semillas de frijol, los cuales ofrecen resultados muy limitados en cuanto a la concentración de ARN. Es por ello que se generó un protocolo de extracción que facilita la obtención de ARN de calidad y en las concentraciones adecuadas para realizar experimentos de expresión génica.

**3. BENEFICIOS ESPERADOS.** Reducción de costos en comparación con protocolos comerciales y los reportados en la literatura. Incremento en las concentraciones ARN de calidad a partir de una sola semilla de frijol. Eficiencia en el uso de insumos. Estos beneficios contribuyen en investigaciones enfocados a programas de mejoramiento genético que incrementen la calidad y el rendimiento del cultivo de frijol. Además, se podrían identificar genes que funcionen como marcadores moleculares relacionados con cierta condición presente en el cultivo (estrés biótico y/o abiótico).

**4. ÁMBITO DE APLICACIÓN.** En el sector público y privado relacionado con la biotecnología

vegetal aplicada al cultivo de frijol. Principalmente en los Estados productores de frijol en México (Zacatecas, Durango y Chihuahua), y aquellos donde se realiza investigación con este cultivo.

**5. USUARIOS POTENCIALES.** Esta técnica puede ser utilizada en laboratorios de biotecnología en Universidades y Centros de Investigación públicos y privados.

**6. COSTO ESTIMADO.** El costo con el protocolo comercial es de \$430.00 por semilla de frijol. El costo aproximado con el protocolo de Beker y colaboradores es de \$320.00, mientras que con el protocolo de la presente tecnología, el costo es de \$250.00 por semilla.

**7. SOPORTE DOCUMENTAL.** Los datos que se obtuvieron de calidad y concentración del ARN de semilla de frijol, se encuentran en el informe semestral del proyecto de Recursos Genéticos: "Semillas Ortodoxas Norte".

**8. PROPIEDAD INTELECTUAL.** En trámite.

Para mayor información dirigirse a:

*Dra. Silvia Salas Muñoz*<sup>1</sup>

*Dr. Luis Roberto Reveles Torres*<sup>2</sup>

*Dra. Fatima Berenice Salazar Badillo*<sup>2</sup>

*Dr. Jorge Armando Mauricio Castillo*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CONACYT-INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Dirección: Apartado Postal 18. Calera, Zac. 98500

Tel 01 800 088 22 22 Ext. 82329

<sup>2</sup>INIFAP Campo Experimental Zacatecas

Dirección: Apartado Postal 18. Calera, Zac. 98500

<sup>3</sup>Unidad Académica de Agronomía, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas. C.P. 98170, México.

[silviasm0207@gmail.com](mailto:silviasm0207@gmail.com)

[reveles.roberto@inifap.gob.mx](mailto:reveles.roberto@inifap.gob.mx)

Fuente Financiera: INIFAP

[www.inifap.gob.mx](http://www.inifap.gob.mx).

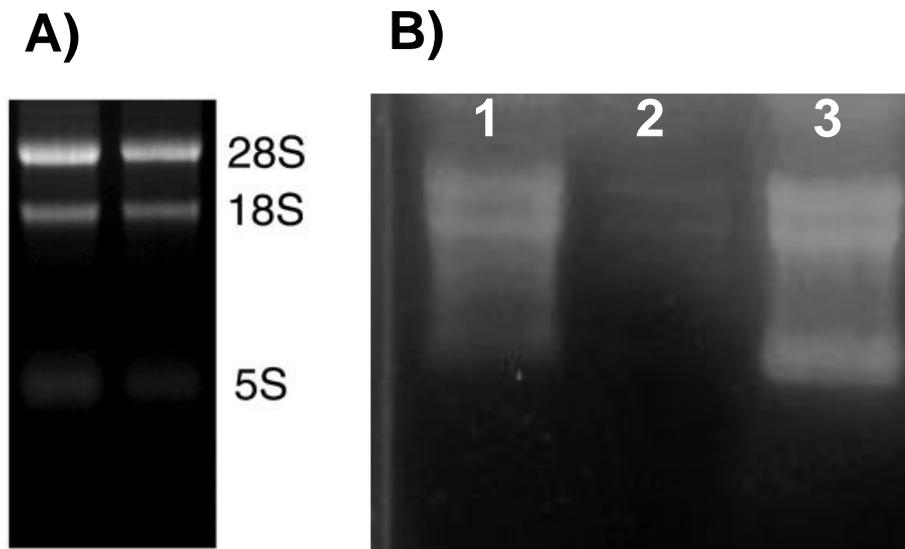


Figura 1. A) Visualización de las subunidades ribosomales 28S, 18S y 5S del ARN de planta. B) Gel de calidad de la extracción de ARN de una semilla de frijol mediante tres protocolos. (1) ARN mediante la extracción con el protocolo comercial, (2) ARN mediante la extracción con el protocolo de Becker y col 1995 y (3) ARN mediante la extracción con el protocolo generado en el INIFAP-CEZAC.

### Ventajas comparativas

Tabla 1. Comparación de concentración y calidad del ARN de semilla de frijol extraído con tres protocolos diferentes.

ARN de semilla de frijol	Concentración (ng/μl)	Relación 260/280
Protocolo Comercial	1,726.2	1.88
Protocolo de Becker	1,916.4	1.86
<b>Protocolo Generado INIFAP-CEZAC</b>	<b>2,583.2</b>	<b>2.02</b>

## DATOS ADICIONALES FUERA DEL FORMATO DE LA FICHA TECNOLÓGICA

- **Cantidad disponible del componente tecnológico:**  
Esta nueva tecnología es un protocolo experimental de laboratorio, por lo que hablar de una cantidad disponible del componente tecnológico, no es aplicable.
- **Eta de registro del material:**  
No se ha iniciado el registro del protocolo.
- **Quién financió el proyecto en el cual fue generada la tecnología:**  
El Proyecto es financiado por recursos Fiscales.
- **Con qué instituciones, organizaciones, industrias, empresas se puede vincular el INIFAP a través de ésta tecnología.**  
Esta técnica puede ser vinculada con Laboratorios de investigación de Universidades como en las Unidades académicas de Agronomía, Medicina Veterinaria y Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas; siendo además útil para Laboratorios de Fitopatología, de Diagnóstico, de Mejoramiento Genético, Centros de investigación, demás Universidades, entre otros.
- **Quiénes demandaron la generación de ésta tecnología:**  
Investigadores, programas de fitomejoramiento de frijol, técnicos laboratoristas entre otros.
- **Cuál fue el objetivo de la investigación, tecnología o componente tecnológico?:**  
Generar una técnica de laboratorio que permita la obtención de ARN de buena calidad y cantidad a partir de una semilla de frijol, para estudios de expresión génica de frijol.