



EL USO DEL ADN MITOCONDRIAL Y ENZIMAS DE RESTRICCIÓN PARA IDENTIFICAR ESPECIES DE CARACOLES MARINOS *Strombus gigas*, *Strombus costatus* y *Turbinella angulata* DE INTERÉS COMERCIAL EN LA PENINSULA DE YUCATÁN

Dr. Luis Alfonso Rodríguez Gil¹, Dr. Carlos Francisco Reyes Sosa¹, Dr. Jorge Tello Cetina. MC. Roberto Zamora Bustillos y MC. Ramiro Alpizar Carrillo¹.

Instituto Tecnológico de Mérida. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica.
Laboratorio de Aprovechamiento de Recursos Marinos
luis_rdzgil@hotmail.com , carlos.reyes.sosa@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El certificado de origen de muchos alimentos es de vital importancia para un comercio legal de los productos y principalmente de los alimentos marinos que han sido procesados, ya que no se observa su morfología y por lo tanto, no pueden ser clasificados taxonómicamente. Para poder identificarlos se han estado usando diferentes técnicas como: la electroforesis, la cromatografía o técnicas inmunológicas, usando las proteínas solubles del músculo de las especies a identificar.

En la Península de Yucatán es costumbre ingerir alimentos de origen marino frescos como: ceviches mixtos de moluscos y de filetes de pescado; Procesados como: la raya pinta, el tiburón-cazón y el bacalao Noruego. También es fácil confundir el origen de los caracoles marinos del Género de los *Strombus* y de otras especies de caracol en cuanto a su autenticidad de origen. Por lo que, en muchas ocasiones se duda de su auténtico origen. Ante esta situación, el objetivo de este trabajo es usar la ampliación de la reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) de seleccionadas regiones de la mitocondria como el gen 16S rRNA, seguido del análisis de los sitios restricción de fragmentos de DNA amplificados para diferenciar tres caracoles marinos dos del mismo Género como son el *Strombus gigas* y el *S. costatus*; y otro del Género *Turbinella* como lo es el *Turbinella angulata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las etapas que se utilizaron para la obtención de los RFLP's fueron:: extracción de ADN, amplificación por "PCR" del fragmento de interés, visualización del ADN, digestión con enzimas de restricción.

Para la extracción del ADN total del tejido se utilizaron Kits comerciales como el denominado "Dneasy Tissue (Qiagen)" siguiendo el protocolo que indica el Kit. La concentración del ADN total se realizó por comparación de bandas en geles de agarosa al 0.8% y teñidos con bromuro de etidio.

La reacción en cadena de la Polimerasa se efectuó con la utilización de los siguientes "primers" 16S-1: 5' CAC CAC AAC ATA CAT ACC C-3' (19 mer) y 16S-2: 5'-CGT TAA ACC CAT AGT CAC AG-3' (20 mer) sintetizados por la compañía (ISOGEN, Utrecht) los cuales sirvieron para amplificar un fragmento de la región 16S RNA ribosomal de genoma mitocondrial.

Condiciones de Electroforesis. La migración de los productos de "PCR", se realizaron en geles de agarosa al 0.8 % en una cámara horizontal con Buffer TAE 1X a 60 miliAmperes durante 90 minutos. Los fragmentos de ADN fueron estimados con un marcador de peso molecular (50 pb DNA Step lader, promega), la tinción se llevó acabo con bromuro de etidio y visualizado bajo luz UV.

Digestión de los productos de "PCR" . La búsqueda de polimorfismo en el fragmento amplificado, se realizó con 2 enzimas de restricción la Taq y Hind III siguiendo las especificaciones proporcionadas por el fabricante (Promega).

RESULTADOS

Se tiene como resultado que las enzimas Tag y Hind III cortan al DNA del caracol *Turbinella angulata* y estas enzimas no cortaron el DNA de los caracoles *Strombus gigas* y *Strombus costatus* (Fig 1 y 2).

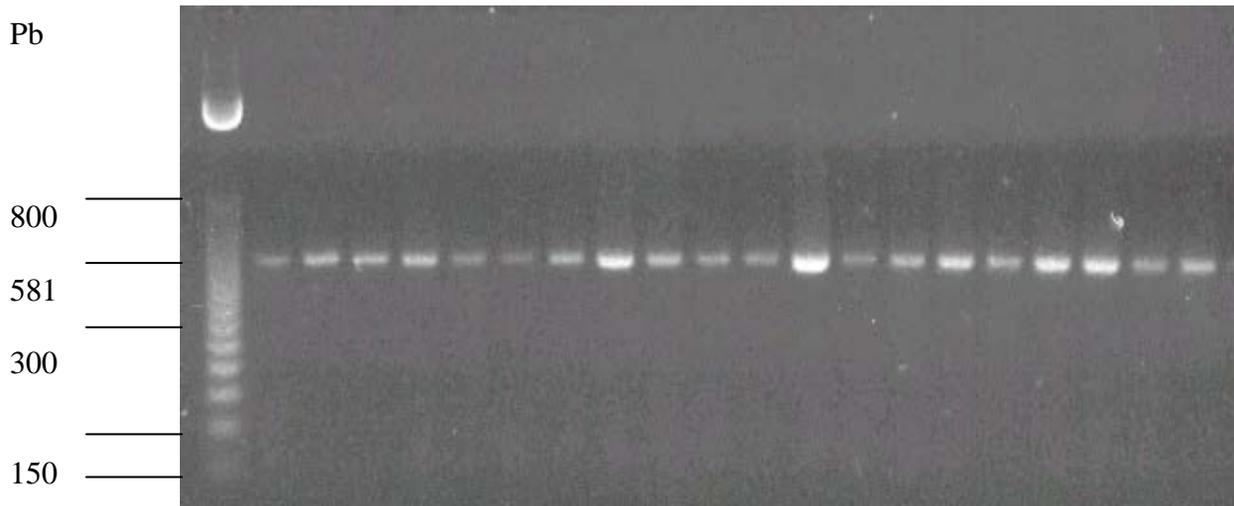


Figura 1. Fotografía que muestra los productos amplificados correspondientes al segmento 16S rRNA del genoma mitocondrial de 20 muestras de caracol marino *Strombus gigas*. pb = pares de bases

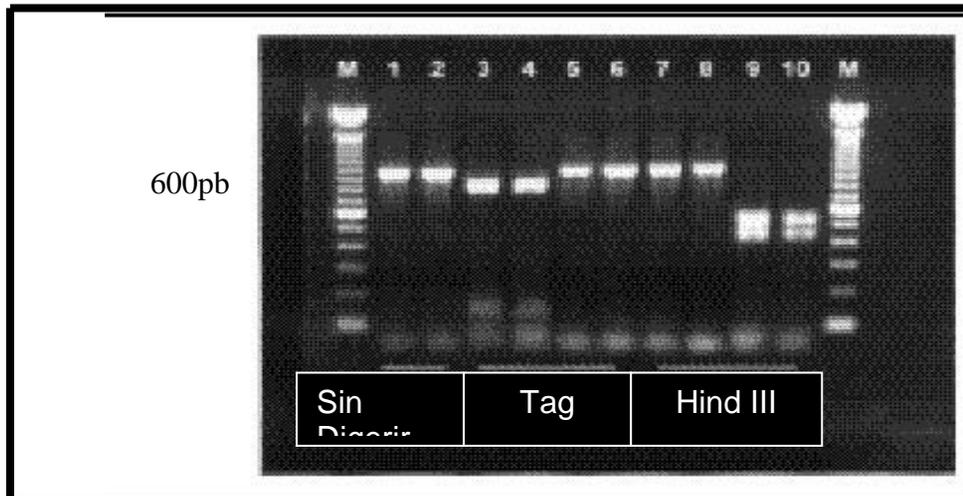


Figura 2. Productos de la digestión de enzimas. Muestra 1 y 2 controles sin digerir, 3 y 4 muestras de *Turbinella angulata* con digestión, 5 y 6 muestras de *Strombus gigas* y *S. costatus* respectivamente sin digestión usando enzima Tag, la muestra 7 de *Strombus gigas* y la muestra 8 de *Strombus costatus* sin digerir y muestras 9 y 10 de *Turbinella angulata* con digestión enzima Hind III.

CONCLUSIONES

Los productos del PCR del caracol marino tiburro *Turbinella angulata* digeridos con la enzima Tag y Hind III rindieron dos fragmentos de 100 pb y 500 pb con la enzima Tag y dos fragmentos de 300 y 400 pb con la enzima Hind III, mientras que los productos de PCR de los caracoles *Strombus gigas* y *S. costatus* no fueron divididos por las enzimas Tag y Hind III .

Esta metodología ha sido usada con seguridad con productos frescos y procesados, una vez que el grado de variación intraespecífica es conocida, sin embargo, su aplicación a productos enlatados puede ser limitado si en el procesamiento de los moluscos el DNA es notablemente dañado.

Por lo que, se obtuvo como resultado que estos marcadores genéticos son una herramienta para detectar fraudulencia en la sustitución del caracol marino *Strombus gigas* y *Strombus costatus* por el caracol *Turbinella angulata* de menor precio.