



ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE SECUENCIAS ORTÓLOGAS AL GEN *HMGR* Y DEL CONTENIDO DE β -SITOSTEROL EN FRUTOS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.).

¹Caldera-Soto Jesús E., ¹Peraza-Magallanes Ayesha Y., ¹Valdez-Morales Maribel., ¹Medina-Godoy Sergio., ²Ibarra-Laclette Enrique., ¹Calderón-Vázquez Carlos L.*

¹Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-Sinaloa), Departamento de Biotecnología Agrícola, Guasave, Sinaloa, CP. 81101. ²Instituto de Ecología A. C., Red de Estudios Moleculares Avanzados, Xalapa, Veracruz, CP. 91070. *e-mail: ccalderon@ipn.mx.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., β -sitosterol, *HMGR* (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase).

Introducción. México es líder mundial en el mercado de aguacate (*Persea americana* Mill.) siendo la variedad Hass la más comercial, sin embargo, existen variedades que se están caracterizando genética y fenotípicamente de tal forma que se ha demostrado contenido diferencial de tocoferol en colectas de Sinaloa. En plantas el β -sitosterol es el fitosterol más abundante (90%) en fruto y se acumula con el desarrollo. En aguacate no se conocen los mecanismos que regulan su acumulación. Un paso limitante en la biosíntesis de sitosterol está mediado por la enzima *HMGR* la cual se considera clave para propósitos biotecnológicos.

El objetivo del trabajo fue identificar y analizar secuencias ortólogas al gen que codifica para *HMGR* en el transcriptoma de aguacate así como evaluar si ocurre acumulación diferencial de β -sitosterol en el fruto.

Metodología. La secuencia del gen *HMG1* de *A. thaliana* (AT1G76490.1) se utilizó como modelo para identificar secuencias ortólogas en el transcriptoma mediante BLASTN seleccionando aquellas con al menos un valor de $10E^{-10}$ de valor esperado y 80% de identidad. Las secuencias resultantes que putativamente codifican para *HMGR* se alinearon con los genes putativos de otras especies vegetales y se evaluó la presencia de dominios conservados y regiones diferenciales entre ellas. Para el análisis de contenido de β -sitosterol, se realizaron tres muestreos (jul-14, sep-14, nov-14) de individuos de aguacate fenotípicamente contrastantes. Se extrajo aceite de la pulpa del fruto por el método Soxhlet (1), y del extracto lipofílico se extrajo β -sitosterol siguiendo una metodología de separación de fases (2). Las muestras se analizaron por HPLC a 210 nm.

Resultados. Se encontraron dos secuencias que codifican putativamente para *HMGR* en el transcriptoma de aguacate. La Fig. 1 muestra el análisis filogenético realizado con las secuencias de aminoácidos de *HMGR* en plantas y se observa una diferenciación clara entre las proteínas de las mono y dicotiledoneas, estas últimas en tres subgrupos. Se encontraron especies con *HMGRs* tanto del subgrupo I como del II, por ejemplo, *V. vinifera*. Las *HMGR* de aguacate se encuentran, junto con la proteína de *M. chapensis*, otra laurácea, en el subgrupo II. Por otro lado, la acumulación de β -sitosterol de las

colectas estudiadas se aprecia en la Fig. 2. y se observa acumulación diferencial entre colectas sobre todo en el último punto de muestreo. Para aguacate cv. Hass de California se reportan $76 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de β -sitosterol (4).

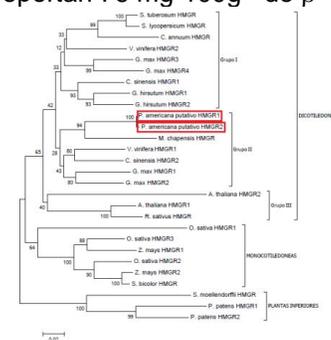


Fig. 1. Árbol filogenético (Neighbor-joining) de la proteína *HMGR*. Los números en los nodos representan el bootstrap (1000 réplicas). En color rojo se muestra las secuencias de aguacate identificadas.

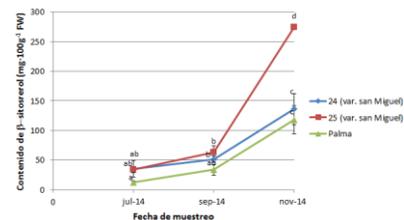


Fig. 2. Niveles de β -sitosterol ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ FW) en colectas de aguacate.

Conclusiones. Las plantas tienen enzimas *HMGR* que parecen haber surgido por duplicación (3). Las secuencias que codifican para la proteína *HMGR* en aguacate se encuentran en el subgrupo II. Por otro lado, la acumulación de β -sitosterol es diferencial entre colectas sobre todo en los últimos estadios de desarrollo del fruto.

Agradecimiento. Al Dr. Luis Herrera Estrella, líder del proyecto SAGARPA-CONACYT del genoma de aguacate por proporcionar las secuencias. A la Secretaría de Investigación y Posgrado (Proyecto SIP 20144021) por el financiamiento para la realización de este trabajo.

Bibliografía.

- Lee, S. (1981). *California avocado society yearbook*. 65: 133 – 141.
- Cerretani, L., Lerma-García, M., Herrero-Martínez, J., Gallina-Toschi, T. y Simó-Alfonso, E. (2010). *J Agric Food Chem*. 58, 757 – 761.
- Friesen, J. y Rodwell, V. (2004). *Genome biology*. 5 (248): 1 – 7.
- USDA. (2012). Agricultural research service.