



## METABOLISMO DE FENILPROPANOIDES EN CULTIVOS DE RICES PILOSAS DE *Capsicum* spp QUE LLEVAN UN FRAGMENTO DE UN GEN DE PAL

López Sánchez Claudia<sup>1,2</sup>, Ochoa Alejo Neftali<sup>3</sup>, Palma Cruz Felipe<sup>4</sup>, Josefina Pérez Vargas<sup>5</sup>, Esparza García Fernando<sup>1</sup>, Calva-Calva Graciano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV-México, <sup>2</sup>Centro de Investigación y Graduados ITAO, <sup>3</sup>Microbiología y Genética CINVESTAV-IRAPUATO, <sup>4</sup>División de Estudios de Posgrado e Investigación ITO, <sup>5</sup>Ingeniería Bioquímica TESE

Se establecieron raíces transformadas de *Capsicum* spp., que llevan cDNA correspondiente a un fragmento del DNA del gen de fenilalanina amonio liasa (PAL, E.C. 4.3.1.5) de *Petroselinum crispum* (Perejil) con la finalidad de estudiar el metabolismo de fenilpropanoides y compuestos fenólicos relacionados. La PAL es la enzima que cataliza la conversión de Phe a ácido cinámico, primer paso metabólico de la vía de los fenilpropanoides. La PAL, en frutos de *Capsicum* (Chile), parece participar también en ruta de biosíntesis de capsaicinoides, grupo de compuestos que le confieren el sabor pungente a dichos frutos. Los capsaicinoides son un grupo de compuestos orgánicos relacionados con los alcaloides. Doce compuestos han sido identificados, pero la capsaicina y dihidrocapsaicina son responsables del 90% del sabor pungente. Los restantes análogos difieren en la longitud de su cadena alifática y en el grado de insaturación. Estos compuestos, sintetizados exclusivamente en la placenta de los frutos de plantas del género *Capsicum*, son amidas de la vainillilamina y un ácido graso de nueve a once carbonos, el cual les da su identidad. La vainillilamina, parte aromática de los capsaicinoides, proviene directamente de la fenilalanina, primera etapa de la vía de los fenilpropanoides. En general, en plantas la PAL convierte fenilalanina en ácido cinámico, que en la vía de los fenilpropanoides subsecuentemente es transformado en ácido cumárico, ácido caféico y ácido ferúlico por la ácido cinámico 4-hidroxilasa (CA4H), ácido cumárico 3-hidroxilasa (CA3H), y ácido caféico O-metiltransferasa (CAOMT), respectivamente hasta llegar a ácido ferúlico que luego es utilizado para la síntesis de ligninas y flavonoides. Sin embargo, en los frutos de *Capsicum*, el ferúlico también está propuesto como precursor de capsaicinoides vía la síntesis de vainillina y vainillilamina. No obstante, las enzimas que catalizan la transformación del ácido ferúlico a vainillina y de esta a vainillilamina en los frutos de *Capsicum* aún son desconocidas. Es decir, a diferencia de la transformación del ácido ferúlico a vainillina en plantas y en microorganismos donde se han propuesto varias rutas metabólicas, al menos para la transformación de ácido ferúlico a vainillina, y donde la PAL es la enzima reguladora al inicio de la vía, en los frutos de *Capsicum* los mecanismos enzimáticos de ambas conversiones son prácticamente desconocidos. Así, dado que la PAL es la enzima reguladora de la vía de fenilpropanoides y que *Capsicum* es compartida por la vía de los capsaicinoides, se postula que esta enzima puede participar también en la regulación de la biosíntesis de capsaicinoides. Para explorar esta hipótesis, en este trabajo se estudió el

efecto de la expresión de un gen foráneo de PAL en raíces transformadas de *Capsicum chinense* y *C. annuum* sobre los niveles de fenilpropanoides y capsaicinoides. Los cultivos transgénicos se establecieron mediante la inoculación de plántulas de esas variedades de Chile con *Agrobacterium rhizogenes* al que se le introdujo un transgen de PAL obtenido de *Petroselinum crispum* (Perejil) usando el plásmido pCAMBIA 3301 como vector de clonación. Los resultados del análisis del perfil de compuestos fenólicos en de varias líneas de raíces, tanto transformadas como normales establecidas directamente de plantas sin infectar, muestran que en los cultivos que llevan el transgen de PAL se incrementó notablemente la cantidad de flavonoides del tipo quercetina, quercetrina y luteolina. En algunas líneas de raíces transformadas con PAL se observó también la sobreacumulación de ácido cumárico y de ácido ferúlico libre y en cuatro formas conjugadas, dos de las cuales no se han observado en los cultivos de raíces normales ni en cultivos de células en suspensión. Hasta el momento no se ha detectado la presencia de capsaicinoides en ninguno de los cultivos de raíces, sin embargo se detectan varios compuestos que se han observado en cultivos de células en suspensión previamente alimentados con estos compuestos.

### Reconocimientos

CONACYT, 211085-5-29307-B  
COSNET 1028.03P