



## ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA BIOSÍNTESIS DE BIXINA EN *Bixa orellana* L.

Norma L Rodríguez-Ávila<sup>a</sup>, Renata Rivera-Madrid<sup>a</sup>, Margarita Aguilar-Espinosa<sup>a</sup>, José A Narváez-Zapata<sup>b\*</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación Científica de Yucatán. C. 43 No. 130 Col. Chuburná de Hidalgo. C.P. 97200. Mérida Yuc.

<sup>b</sup>Centro de Biotecnología Genómica-IPN, Blvd. Del Maestro s/n, Reynosa 88710, Tam. IPN Ext. 87726

\*jnarvaez@ipn.mx

*Palabras clave:* bixina, carotenogénesis, expresión diferencial.

**Introducción.** La bixina es el principal carotenoide de *Bixa orellana* L. acumulándose en el pericarpo de las semillas, y en la actualidad es uno de los pigmentos de origen natural más demandados a nivel internacional (1). En estudios *in vitro* dirigidos a la elucidación de la ruta de biosíntesis de bixina se ha publicado que al licopeno como la molécula precursora sobre la que se realiza la intervención de tres enzimas: una licopeno dioxigenasa (*BoLCD*), una bixina aldehído deshidrogenasa (*BoBADH*) y una norbixina metil transferasa (*BonBMT*), dándose origen a la bixina (2,3). Es posible esperar una expresión diferencial de estos genes a través de las diferentes etapas de desarrollo de la planta así como en los órganos y tejidos donde se presenta la mayor acumulación de bixina, por lo que un análisis al respecto en plantas de *B. orellana* L. es fundamental para comprender este proceso en condiciones naturales.

El presente trabajo propone la obtención de sondas para el análisis de la expresión transcripcional de genes involucrados en la biosíntesis de bixina en dos variedades contrastantes en su acumulación de pigmento, con el fin de sentar las bases genético moleculares para el mejoramiento genético a futuro de este cultivo.

**Metodología.** Se colectaron muestras de los diferentes tejidos de floración y fructificación de dos variantes de *B. orellana* L (Fig. 1), los cuales fueron preservados a -80 °C. El aislamiento de los genes se realizó por PCR con cebadores diseñados a partir de las secuencias registradas en el GeneBank. Los experimentos de RT-PCR se realizaron a partir de 200 ng de ARN total extraído para cada uno de los tejidos. Finalmente, la cuantificación de los pigmentos fitoeno, licopeno y bixina se analizaron por HPLC en una columna de fase reversa Hypersil ODS C-18, usando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo/metanol/isopropanol en una proporción 75:10:15, y estándares puros de la marca Sigma.

**Resultados y discusión.** La variante “Peruana Roja” (Fig. 1.A) acumula hasta 2.5 veces más bixina que la conocida como “Criolla” (Fig. 1.B). Asimismo, la concentración del precursor licopeno se mantiene constante en todos los tejidos. Por otro lado, se ha logrado aislar un fragmento de 541 aa correspondiente a una carotenoide dioxigenasa (CCD); parte de dicha secuencia parcial codifica para un dominio RPE65, conservado entre enzimas de plantas involucradas en el rompimiento oxidativo de carotenoides. Asimismo, dicha CCD muestra una expresión diferencial a

través de las diferentes etapas desarrollo de *B. orellana* L y entre las dos variantes objeto de análisis del presente trabajo. Dichos perfiles de expresión son similares a los observados con otros genes involucrados en la síntesis de moléculas precursoras tales como fitoeno y licopeno.



Fig. 1 La variedad de *Bixa orellana* L. conocida como “Peruana Roja” (A), es sobreacumuladora de bixina en sus semillas maduras (182 mg/g peso seco), a diferencia de la “Criolla” (B), que no presenta concentraciones tan altas de este pigmento (72 mg/g peso seco). (C) Las diferentes etapas de desarrollo de *B.orellana* L: P: plántula, B: botón floral, FL: flor, FR: fruto, SI: semillas inmaduras, SM: semillas maduras

**Conclusiones.** La variante “Peruana Roja” acumula una mayor cantidad de bixina que la “Criolla”, pudiendo correlacionarse esta característica con los perfiles de expresión de los genes involucrados en la síntesis de tal pigmento. En adición, cambios en la expresión de los genes involucrados en la síntesis de moléculas precursoras no se traducen en variaciones en la concentración de licopeno, mas no así de bixina; por tanto, es posible que licopeno no sea el único precursor de bixina.

**Agradecimiento.** El presente trabajo se desarrolla dentro del marco del proyecto P-46541 Z financiado por el CONACyT. No. de becario CONACyT: 196432.

### Referencias.

- Arce J. (1999). El achiote *Bixa orellana* L. Cultivo prometedor para el trópico. Primera Edición. Editorial Earth. Costa Rica. p: 50
- Jako C, Coutu C, Roewer I, Reed DW, Pelcher LE, Covello PS. (2002). Probing carotenoid biosynthesis in developing seed coats of *Bixa orellana* (Bixaceae) through expressed sequence tag analysis. *J. Plant Sci.* 163: 141-145
- Bouvier F, Dogbo O, Camara B. (2003). Biosynthesis of the food and cosmetic plant pigment bixin (annatto). *Science* 300: 2089-2091