VARIACIÓN METABÓLICA POR EL MIR-X01 EN TABACO

Vladimir Flores Benavides, Daniela Arrieta Flores, Valeria Lemus Castillo, Israel Benoni Vallejo Beristain, Fabiola Eloísa Jiménez Montejo, Flor de Fátima Rosas Cárdenas, Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Tepetitla, Tlaxcala, México C.P. 90700. fatyrosas@hotmail.com.

Palabras clave: Micro-RNA, Metabolismo, HPLC.

Introducción. Los miRNAs son importantes reguladores genéticos, implicados en todas las etapas de una planta, desde la germinación hasta senescencia [(1)]. Al modular la expresión genética de mRNA, dependiendo del blanco puede desempeñar un papel particular, como la acumulación de metabolitos secundarios [(2)]. En el presente trabajo se aisló un miRNA con potencial regulación de enzimas involucradas en biosíntesis de metabolitos secundarios de Tabaco.
Objetivo: Identificar por PCAs la variación metabólica de los datos del HPLC.

Metodología. Se transformaron en cultivo *in vitro* callos de *Nicotiana tabacum* con la cepa de *Agrobacterium tumefaciens* GV301 que contenían el vector de expresión pB7WG2D+miR-X01, y se recuperaron a plántulas que se aclimataron a invernadero. Se realizó una extracción (1g tejido / 5mL Solvente) con Etanol al 80% de las líneas sobreexpresoras (OE) obtenidas y se analizó el perfil metabólico por HPCL, en 4 longitudes de onda. Y los datos obtenidos de los cromatogramas, se analizaron por PCAs en SIMCA 16.

Resultados. El perfil metabólico obtenido de las plantas fue graficado en PCAs y coloreado por grupos. La variación metabólica entre plantas permite la separación de ambos, en R2X(1)=0.42 (Figura 1) se dispersaron en 2 conjuntos de datos, del lado negativo quedan las plantas Wild type (Color Verde) y del lado positivo las OE (Color Azul).

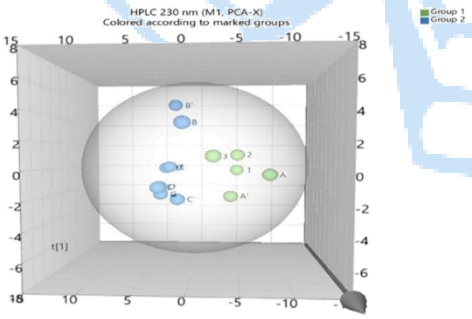

Fig. 1. PCA de cromatogramas a 230 nm. Grupo 1 - plantas Wild type. Grupo 2 – plantas sobreexpresoras**.**

El "S-plot" permite identificar los tiempos de retención con mayor variación en cada longitud de onda analizada, que corresponden a un metabolito secundario en específico. Por ello los que mayor aumento tuvieron son los tiempos (en minutos) de 3.47, 5.27, 2.47, 4.3, 4.1 y los que disminuyeron son 9.57, 13.25, 9.77, 14.24, 8.07.

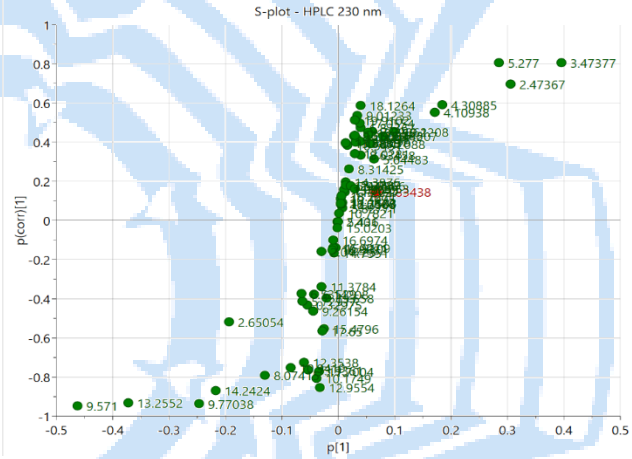

Fig. 2. S-plot de cromatogramas a 230 nm. Puntos verdes refieren a tiempos de retención**.**

Conclusiones. El gen miR-X01 expresado en tabaco indujo una variación en el metabolismo secundario de las plantas, los datos obtenidos del HPCL de los extractos etanólicos fueron analizados en SIMCA, logrando diferenciar por composición metabólica las plantas transformadas, además de identificar los tiempos de retención con mayor acumulación o disminución de un metabolito en específico.

Agradecimiento. Agradecemos a BEIFI y CONACYT por el apoyo económico para esta investigación.

Bibliografía.

1. Dong Q, Hu B, Zhang C. MicroRNAs and Their Roles in Plant Development. *Front*. 2022. Vol. 13: 824240

2. Owusu M, Zhou X, Mao M, Rafique F, Ma J. MicroRNAs Roles in Plants Secondary Metabolism (2021) *Plant Signal*. Vol. 16(7):1915590.