

PRODUCCIÓN DE CITOCININAS Y CAROTENOIDES POR *Rhodococcus fascians* EN MATRACES AGITADOS.

R.E. Carrera-Gutiérrez¹, G.V. Nevárez-Moorillón¹, E. Galindo-Fentanes² y J.L. Ibañez-González¹.

¹FACIATEC-FCQ, Universidad Autónoma de Chihuahua, Cd. Universitaria s/n. Chihuahua, Chih; 31310. México.

²Depto. de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca, Mor; México.

E-mail: jibave@uach.mx

Palabras clave: producción, *R. fascians*, matraces agitados.

Introducción. *Rhodococcus fascians* es un cocobacilo Gram positivo fitopatógeno, que produce fasciación causada por alteraciones en los balances hormonales de la planta por excreción excesiva de citocininas (1). Cuando crece en medio nutritivo, sus colonias son amarillo-naranja, indicando la presencia de compuestos carotenoides (2), que se emplean como colorantes en alimentos procesados para consumo humano y animal. Además se ha reportado su actividad como antioxidantes, protectores importantes contra cáncer, problemas cardíacos y degenerativos del ojo. Las citocininas se utilizan en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales estimulando división celular, y en plantas completas la expansión de hojas, brotación de yemas y retardo de la senescencia. Ambos metabolitos se obtienen de extractos vegetales y/o por síntesis química, por lo que su obtención por vías biotecnológicas es de gran interés.

El objetivo de este trabajo es caracterizar las cinéticas de producción de biomasa, citocininas (2iPr) y carotenoides totales de *R. fascians*, así como la identificación parcial del compuesto carotenoide.

Metodología. Se realizaron estudios en matraces (500mL), conteniendo medio MinA (20mM de glucosa) pH 7, e incubados a 28°C, 125rpm durante 96h con análisis cada 12h. El crecimiento microbiano se determinó por el método de Miles y Misra (3). La glucosa por un método enzimático, las citocininas (2iPr) por HPLC. Los carotenoides totales se determinaron por DMSO y extracción con hexano/acetato de etilo; la concentración se calculó con un coeficiente de extinción 1% 2500 a 274nm (4). La identificación parcial del carotenoide se hizo en base a la metodología de Schmidt y colbs. (5).

Resultados y Discusión. La concentración celular al final de la cinética de crecimiento fue de 3.79×10^{13} UFC/mL y la glucosa fue hidrolizada después de 84h (Figura 1). La máxima producción de carotenoides totales (3.7 mg/L) y de citocininas (5.6 mg/L) se alcanzaron a las 96h y se encuentran parcialmente asociadas al crecimiento (Figura 2). El máximo de absorción del carotenoide se observó a 274 nm y los análisis por HPLC con detector de arreglo de diodos (DAD) a 295nm, mostraron un pico con tiempo de retención de 13.1 minutos, sugiriendo ser derivado cercano del fitoeno. Existen en la literatura reportes sobre diferentes carotenoides en especies del género *Rhodococcus*, pero no se

ha reportado con anterioridad la presencia de compuestos similares en *R. fascians*, mucho menos del fitoeno (2).

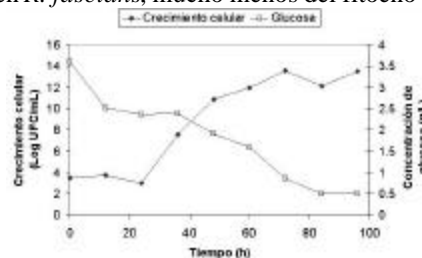


Figura 1. Cinética de crecimiento celular vs. Consumo de glucosa de *R. fascians* en matraces agitados.

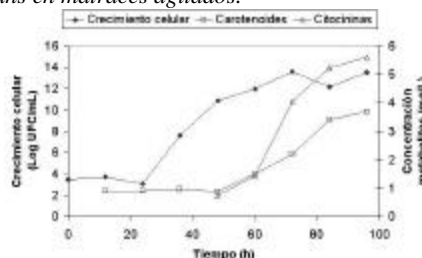


Figura 2. Cinética de crecimiento celular y producción de metabolitos (citocininas y carotenoides totales) de *R. fascians* en matraces agitados.

Conclusiones. La producción de 2iPr y carotenoides totales en *R. fascians* se encuentra parcialmente asociada al crecimiento. Por identificación parcial, el pigmento carotenoide demostró ser un derivado cercano del fitoeno.

Bibliografía

- [1]. Vereecke, D; Burssens, S; Simón-Mateo, C; Inzé, D; Van Montagu, M; Goethals, K. y Mondher, J. (2000). The *Rhodococcus fascians* –plant interaction: morphological traits and biotechnological applications. *Planta*, 210: 241–251.
- [2]. Ichiyama, S; Shimokata, K. y Tsukamura, M. (1989). Carotenoid pigments of genus *Rhodococcus*. *Microbiol Immunol* 33: 503 – 508.
- [3]. Miles, A.A. y Misra S.S. (1938) The estimation of the bacteriocidal power of blood. *J.Hyg.* 38: 732-748
- [4]. An, G.H; Schuman, D.B. y Johnson, E.A.(1989). Isolation of *Phaffia rhodozyma* mutants with increased astaxanthin content. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:116-124.
- [5]. Schmidt, K, Connor, A. y Britton, G. (1995). “Analysis of pigments: carotenoids and related polyenes”, in *Chemical Methods in Prokaryotic Systematics*; Goodfellow, M. and O’Donnell, A.G. (Eds.), John Wiley & Sons; Chichester, pp. 403 – 461.