

# OBTENCIÓN, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE CLONAS MUTANTES DE *Phaeodactylum tricornutum*.

<sup>1</sup>Tania Castillo Marenco, <sup>2</sup>Zvi Cohen y <sup>1</sup>Bertha O. Arredondo Vega.

<sup>1</sup>CIBNOR S. C., Apdo. postal 128, La Paz, Baja California Sur, México. CP 23090.

<sup>2</sup>Microalgal Biotechnology Laboratory J. Blaustein Institute for Desert Research, Ben Gurion University of the Negev Sde Boker Campus, Israel.

Fax: (612) 125 3625

E-mail: kitty@cibnor.mx

Palabras clave: PUFAs, *P. tricornutum*, mutagénesis

## Introducción.

Los ácidos grasos poliinsaturados -PUFA, por sus siglas en inglés, se han reconocido por sus usos potenciales en la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades<sup>1</sup>. Las algas marinas, tales como la diatomea *Phaeodactylum tricornutum* son la principal fuente de estos compuestos. El empleo de las mutaciones como sistema de mejoramiento genético tiene un gran potencial para incrementar la producción de ácidos grasos y otros metabolitos en algas<sup>2</sup>. En plantas y cianobacterias, los PUFAs de las membranas de los cloroplastos se han reportado como un mecanismo de protección de los fotosistemas a bajas temperaturas y elevadas intensidades luminosas<sup>3</sup>, lo cual puede ser empleado como factor de selección de cepas mutantes sobreproductoras de PUFAs.

En el presente trabajo se evaluaron las variaciones en el perfil de ácidos grasos de cepas mutantes de *P. tricornutum*, seleccionadas bajo condiciones de estrés ambiental.

## Metodología.

Un cultivo en fase exponencial de *P. tricornutum* se expuso a dos concentraciones de etil metano sulfonato (EMS): 6.25 y 12.5  $\mu$ M, tomándose alícuotas a los 30, 60 y 90 minutos posterior a la exposición. Las alícuotas se lavaron con medio libre de EMS y se crecieron en medio F/2 para el aislamiento de colonias.

Se aislaron 66 colonias mutantes que se sometieron a un análisis de resistencia a bajas temperaturas, cambiando la temperatura de incubación de  $20 \pm 1$  °C a  $7-14$  °C, siguiendo el crecimiento celular. Para la cuantificación de ácidos grasos se seleccionaron aquellas colonias que incrementaron su velocidad máxima de crecimiento, con respecto a la cepa silvestre.

El contenido de ácidos grasos en las colonias mutantes y en la cepa silvestre se analizó por cromatografía de gases -espectrometría de masas previa extracción y metilación de los ácidos grasos<sup>4</sup>.

## Resultados y discusión.

Se seleccionaron 20 colonias por presentar resistencia a bajas temperaturas. De éstas, se trabajó solo con 4 colonias que fueron las que mostraron crecimiento. En la Figura 1, se muestra la curva de crecimiento de la cepa silvestre y mutantes seleccionadas.

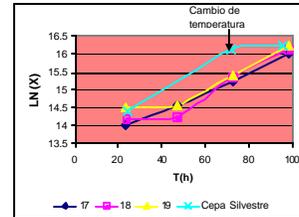
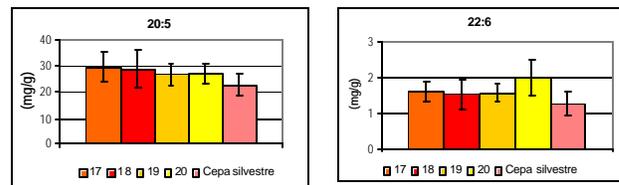


Figura 1. Curva de crecimiento comparativa entre la cepa silvestre y las colonias mutantes en estrés ambiental.

Las Fig. 3 y 4 sólo se muestra el contenido de los ácidos grasos 20:5 (EPA) y 22:6 (DHA) de las cepas silvestre y mutantes. Aunque no se observa una diferencia significativa entre ambas poblaciones, cabe destacar un incremento en los valores promedio de dichos ácidos en las mutantes.



Figuras 3 y 4 Contenido de ácidos grasos en las colonias mutantes 17, 18, 19, 20 y la cepa silvestre

## Conclusiones.

La generación de mutantes de *P. tricornutum* con un contenido de EPA mayor que la cepa silvestre, puede ser aprovechado posteriormente para fines biotecnológicos.

## Bibliografía.

1. Yongmanitchai W. and Ward, O. P. 1989, Omega-?? fatty acids: alternative sources of production, Process Biochemistry, 117-125.
2. López D., Segura del Castillo C.I., Molina E. and Cohen Z., 1996. First insights into improvement of eicosapentaenoic acid content in *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) by induced mutagenesis. J. Phycol. 32: 339-345.
3. Nishida I. and Murata N., 1996. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: The crucial contribution of membrane lipids. Ann. Rev. Plant Physiol. 47: 541-568.
4. Sato N. and Murata, N. 1988. Membrane lipids. Methods and Enzymology 167: 251-259.

## Agradecimientos.

Proyecto CONACyT 31958B y proyecto fiscal PAC01