

ESTRATEGIAS PARA EL INCREMENTO EN LA PRODUCCIÓN DEL COLORANTE PEREZONA.

¹Verónica Garrocho Villegas, ²Thelma L. Villegas Garrido. Depto. de Biofísica, Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Carpio y Plan de Ayala s/No., col. Santo Tomas, C.P. 11340, México, D. F. ¹verogamisha@hotmail.com.

Palabras clave: metabolitos secundarios, elicitores, hexadecano.

Introducción. plantas superiores representan un recurso muy valioso por la gran variedad de químicos especializados que sintetizan (1). La perezona es una quinona sesquiterpénica que por sí misma actúa como un colorante, adicionalmente forma complejos de coordinación metálicos coloridos, está se encuentra en las raíces de *Acourtia hebeclada* (2). Se ha reportado su producción por cultivo de tejidos vegetales en callo y en células en suspensión, se han seleccionado líneas con altos niveles de síntesis y se conoce el medio de cultivo, así como las condiciones de producción del colorante (3). Dado lo anterior es necesaria la aplicación de las estrategias de incremento de la productividad para obtener un sistema de producción de perezona que sea económicamente rentable.

El objetivo del trabajo consistió en buscar las condiciones que permitieran incrementar la producción de la perezona en cultivo celular en suspensión, utilizando la extracción *in situ* con hexadecano como segunda fase en el medio de cultivo, elicitores fúngicos y la inmovilización en alginato.

Metodología. Se trabajó con células en suspensión de *Acourtia hebeclada*, cultivadas en medio MS basal adicionado con ANA, BAP y sacarosa al 3 %. Se aplicaron tres tratamientos a cultivos de una semana: a) Extracción *in situ*, para ello se adicionó hexadecano en dos niveles 5 % y 10 %; b) Elicitor fúngico, en dos concentraciones 0.5 y 1 %, este se obtuvo esterilizando un cultivo de hongos durante 30 min. a 15 lb; c) Inmovilización, se formaron perlas de alginato de calcio de tres viscosidades (alta, media y baja), con las células embebidas en ellas. El tratamiento duró 2 semanas para cada condición. Se cuantificó biomasa y producción de colorante cada semana, tanto en las células, como en el medio de cultivo y en el solvente, a excepción de la inmovilización, en donde solo se evaluó para la segunda semana. La perezona se cuantificó por HPLC y se identificó por espectrofotometría Uv-visible y cromatografía en capa fina.

Resultados y discusión. El hexadecano provocó una ligera disminución en el crecimiento en la 1ª semana de tratamiento el efecto fue mayor para la concentración de 10%. La síntesis del colorante se incrementó en las dos concentraciones probadas (Cuadro 1), principalmente para la 1ª semana con 10 % del solvente (2.64 ug/g de peso seco); a la 2ª. semana se observó una disminución en la producción tanto en el testigo como en la concentración de 10 %, mientras que esta se mantuvo en el hexadecano al 5 %, lo cual nos indica que a concentraciones bajas el solvente es menos toxico para las células al exponerlas por más tiempo.

El elicitor causo una disminución tanto en el crecimiento como en la concentración de la perezona, el efecto fue mayor para el 1 % del elicitor

Cuadro 1 Producción de perezona por tratamientos.

Tratamiento	Colorante (ug/g de peso seco)	
	1ª. semana	2ª semana
Hexadecano testigo	2.134	0.122
Hexadecano 5 %	2.284	1.611
Hexadecano 10%	2.641	0.361
Elicitor Testigo	1.006	1.006
Elicitor 0.5%	0.691	0.605
Elicitor 1%	0.451	0.356
Viscosidad alta	-----	0.296
Viscosidad Media	-----	0.291
Viscosidad baja	-----	0.197

La producción de la perezona en el sistema de células inmovilizadas indicó una disminución en la síntesis del colorante para la viscosidad alta del alginato, mientras que entre las viscosidades baja y media la diferencia fue mínima, siendo esta última la que presentó el valor más grande. En cuanto al crecimiento, este se vio afectado en las tres viscosidades, además se observó oxidación de las células, ligera en la viscosidad media y acentuada en la viscosidad alta. El análisis del medio de cultivo y del solvente por cromatografía en capa fina, para los tres tratamientos, demostró que no se había liberado perezona hacia estos.

Conclusiones. De los tratamientos empleados para incrementar la producción de la perezona, la extracción *in situ* fue el mejor de todos, en específico el hexadecano al 10 % en la primera semana de cultivo; mientras que el elicitor no favoreció la producción de la perezona, ni al crecimiento e incluso causó la muerte de las células en suspensión. Por su parte la inmovilización provocó disminución del crecimiento para las tres viscosidades además de contenidos de colorante bastante pequeños.

Por ultimo la cuantificación por HPLC, por ser una técnica de separación, permitió la evaluación específica de la producción de la perezona en los extractos completos.

Agradecimiento. Al apoyo financiero del CONACYT por la beca crédito 128703 y al proyecto CGPI 20010418 por la beca PIFI.

Bibliografía.

1. Payne, G.; V., Bringi, C.; Prince and M. Shuler, (1991), Plant Cell and Tissue Culture in Liquid Systems, Oxford University Press, New York, pag. 3-69.
2. Lozoya, X. y M. Lozoya, (1982), Flora medicinal de México, primera parte plantas indígenas, IMSS, México, pag. 309.
3. Garrocho, V.V., (2001), Desarrollo de un sistema de cultivo *in vitro* de plantas del género *Acourtia*, que permita el escalamiento en la producción del colorante perezona, Tesis de Maestría, IPN, México, pt. 93.