

Comportamiento de la cinética de producción del ácido jasmónico a escala de laboratorio

Viviana Carabeo-Pérez*, Georgina Michelena-Álvarez

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

Vía Blanca, No. 804 y Carretera Central, San Miguel de Padrón. La Habana, Cuba

*viviana.carabeo@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

Introducción. El ácido jasmónico tiene un efecto biocontrolador, que produce un amplio espectro de respuestas fisiológicas en los cultivos y puede contribuir al desarrollo de programas encaminados a la obtención de alimentos.

Objetivo. Analizar el comportamiento de las cinéticas de producción del ácido jasmónico, el consumo de azúcares reductores totales y el comportamiento del pH.

Materiales y Métodos. Se utilizó la cepa 1 *Botryodiplodia theobromae* de la colección del ICIDCA, un potenciómetro digital Mettler Toledo para medir el pH, el método dinitrisalicílico para la evaluación del sustrato y la técnica analítica HPLC, para observar el comportamiento de la cinética de producción del ácido jasmónico.

Resultados y Discusión. El crecimiento de la curva de producción del ácido jasmónico en los inicios de la fermentación se limita, a partir de la hora 48 se detecta la presencia del AJ y se alcanza un máximo de la producción a las 288 horas de iniciada la fermentación. En los azúcares reductores totales se observa un consumo de los carbohidratos hasta las 240 horas de la fermentación. Se aprecia que el pH, al inicio de la cinética aumenta ligeramente hasta las 48 horas, a un valor de 6; posteriormente, disminuye a 3 hasta la hora 144 para, finalmente, alcanzar un valor máximo de 8 horas, al terminar el experimento.

Conclusiones. Por el análisis anterior se propone, para el escalado, que la fermentación se culmine a los 12 días (288 h), momento en el que se obtiene un máximo de producción del ácido jasmónico de 1.5 g/L a escala de laboratorio.

Palabras claves. Ácido jasmónico, fitohormona, biocontrolador, cultivos agrícolas.

ABSTRACT

Introduction. Jasmonic acid (JA) has a bio-controlling effect, producing a broad spectrum in physiological responses in crops. Also JA can contribute to the development of programs such as food production.

Objective. Analysis of behavior in JA production kinetics, reducing-sugars consumption and pH variation were defined as aims in this study.

Materials and Methods. *Botryodiplodia theobromae* (Strain 1) from ICIDCA collection was used as microorganism in this work. Also, we used a digital pH-meter (based in potentiometric measures) for study pH variations. Di-nitro-salicylic assay and HPLC for substrate evaluation and kinetics for JA production were employed respectively.

Results and Discussion. JA production (visualized employing a curve of this molecule) at the beginning of fermentation is attenuated, and a plateau is attained at 288 hours of fermentation. When total reducing-sugars were analyzed, carbohydrate depletion was observed during 240 hours of fermentation. pH increasing to 6 was obtained in initial hours of fermentation (having 48 h as limit of this behavior). Subsequently pH variations were visualized being 3 (as value at 144 h) and maximum value of 8 (finishing the experiment) the results obtained in this work.

Conclusions. Fermentation should be completed at 12 days (288 h), when maximum production of JA (1.5 g/L) is obtained on a laboratory scale.

Keywords. Jasmonic acid, phyto-hormone, bio-controller, agricultural crops.

INTRODUCCIÓN

El ácido jasmónico (AJ) y sus derivados son los representantes de los reguladores del crecimiento vegetal (RCV) exógenos, denominados jasmonatos a los que, inicialmente, se les atribuyó la propiedad de promover la senescencia de las hojas y la inhibición del crecimiento de las plantas (1). Además, tiene un efecto biocontrolador que produce un amplio espectro de respuestas fisiológicas en los cultivos y, debido a sus diversas aplicaciones en la agricultura, puede contribuir al desarrollo de programas encaminados a la obtención de alimentos.

El objetivo de este trabajo es ver el comportamiento de las cinéticas de producción del ácido jasmónico, el consumo de azúcares reductores totales (ART) y el comportamiento del pH, estos parámetros son monitoreados durante el proceso fermentativo por los diferentes métodos analíticos, como: Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), para la identificación y cuantificación del ácido jasmónico; el control del PH, mediante el uso de un potenciómetro digital y el consumo de sustrato, por el método dinitrisalicílico (DNS), que logra establecer las mejores condiciones de la fermentación para el escalado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismo

Se utilizó la cepa 1 de *Botryodiplodia theobromae* de mayor producción del AJ, procedente de la colección del cepario del ICIDCA, que fue conservada en tubos inclinados, con extracto de malta-agar (Merck) a 4 °C e incubada a 30 °C (2).

Comportamiento del pH

Para la evaluación se mide el pH directamente, mediante el uso de un potenciómetro digital METTLER TOLEDO, se analiza el sobrenadante procedente del caldo microbiano durante toda la fermentación, (3, 4).

Consumo de sustrato

Para la evaluación de este parámetro se determinaron los azúcares totales, con el empleo del método dinitrisalicílico (DNS), el cual determina la presencia de los grupos carbónicos libres ($C=O$) de los azúcares reductores, mediante la utilización del ácido 3.5 DNS (5), con un espectrofotómetro modelo UV 3100 PC, a una longitud de onda de 540 nm.

Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Se utilizó una bomba K 1001 KNAUER, acoplada a un detector ultravioleta KNAUER, un inyector RHEODYNE (modelo 7125), con un lazo de 20 μ L. El patrón utilizado es el ($\pm$)- ácido jasmónico SIGMA y el software para la adquisición y procesamiento de los datos, Clarity.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cinética de producción del ácido jasmónico

El análisis de la cinética se realizó con la utilización de la cepa más productora del AJ (CEPA 1), con el sobrenadante procedente de la fermentación

En la figura 1 se presentan las cinéticas de producción del AJ, el consumo de azúcares reductores totales (ART) y el comportamiento del pH. Con relación a la curva de producción del AJ, en los

inicios de la fermentación, el crecimiento se limita y muestra un comportamiento característico de este metabolismo secundario, a la hora 48 se detecta la presencia del AJ y se alcanza un máximo de la producción a las 288 h de la fermentación de 1.50 g/L. A partir de este tiempo se produce una inflexión de la curva y disminuye hasta 1.03 g/L a la hora 360 del experimento. Con respecto al consumo de los ART se observa que se consumen los carbohidratos hasta las 240 horas de la fermentación.

El pH representa un parámetro que está relacionado con los procesos metabólicos de los microorganismos, pues es un factor determinante para la biosíntesis de metabolitos secundarios; con relación a su comportamiento se aprecia que, al inicio de la cinética, aumenta ligeramente hasta las 48 horas, a un valor de 6; posteriormente, disminuye a 3, hasta la hora 144 para, finalmente, alcanzar un valor máximo de 8, a la hora final del experimento (6). El cambio en el pH se debe a la degradación de la fuente de carbono, que deriva en otros ácidos orgánicos, como: ácido láctico, pirúvico o acético, pues se ha demostrado que la glucosa y otros metabolitos derivados de las fuentes de azúcar interfieren en la síntesis de muchos metabolitos secundarios (6).

Para el escalado, según el análisis anterior, se propone que la fermentación se culmine a los 12 días (288 h), momento en el que se obtiene un máximo de producción del AJ.

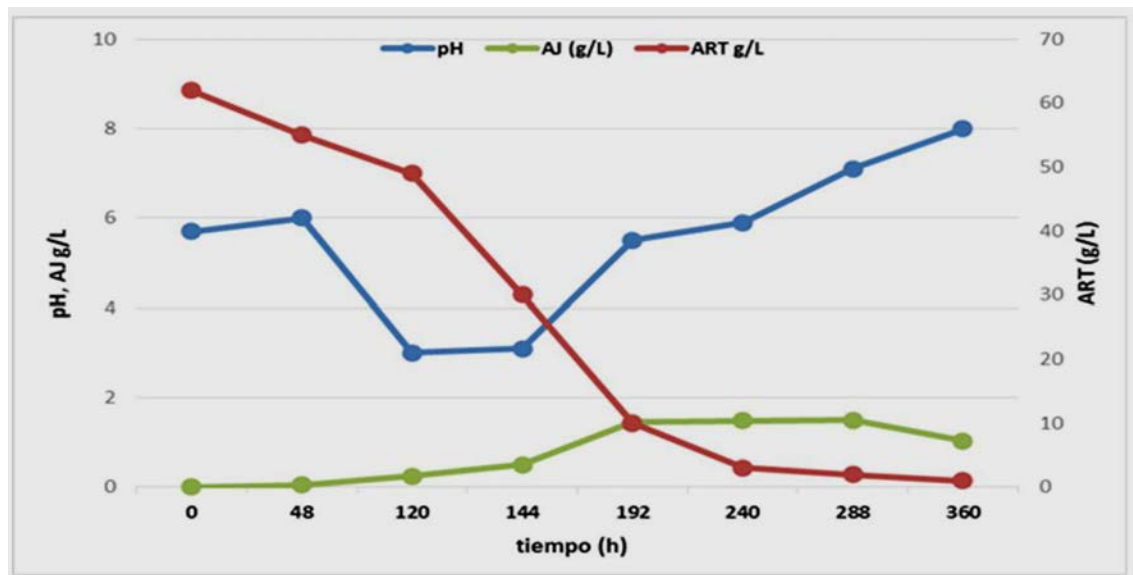


Figura 1. Comportamiento de las cinéticas de producción del AJ, consumo de ART y pH.

CONCLUSIONES

1. Se logró la mayor obtención de AJ a la hora 288 de la fermentación con una concentración de 1.5 g/L.
2. Con respecto al consumo de los azúcares reductores totales se observa que se consumen los carbohidratos, hasta las 240 horas de la fermentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abualia, R., Benkova, E., & Lacombe, B. t. (2018). Chapter Five-Transporters and mechanisms of hormone transport in Arabidopsis. In A. Press (Ed.), *Advances in Botanical Research* (Vol. 87, pp. 115-138). <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2018.09.007>.

2. Laredo-Alcalá, E. I., Martínez-Hernández, J. L., Guillen-Cisneros, L., & Hernández-Castillo, F. D. (2017). Producción de ácido jasmónico por fermentación líquida con cepas de *Botryodiplodia theobromae* nativas del sureste mexicano. *Agrociencia*, 51(8), 885-893.
3. Portela G. C. (2014). Estudio de metabolitos producidos en el proceso fermentativo del hongo *Botryodiplodia Theobromae* por métodos cromatográficos y espectroscópicos Universidad de La Habana.
4. Eng, F., Marin, J. E., Zienkiewicz, K., Gutiérrez-Rojas, M., & Favela-Torres, E. (2021). Jasmonic acid biosynthesis by fungi: derivatives, first evidence on biochemical pathways and culture conditions for production. *PeerJ*, 9(e10873), 30. <https://doi.org/10.7717/peerj.10873>
5. Burgos Montañez, L.J(2020) Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3.5 – dinitrosalicílico
6. -Eng, F., Haroth, S., Feussner, K., Meldau, D., Dmitrij Rekhter, Till Ischebeck, Brodhun, F., & Feussner, I. (2016). Optimized Jasmonic Acid Production by *Lasiodyplodia theobromae* Reveals Formation of Valuable Plant Secondary Metabolites. *PLOS ONE*, 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167627>.