



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
BIOTECNOLOGÍA APLICADA-TLAXCALA

POSGRADO DE TECNOLOGÍA AVANZADA

PURIFICACION DE UN HERBICIDA DE *Streptomyces* sp cepa 1M5a

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN TECNOLOGÍA AVANZADA

PRESENTA

BIOL. ALBERTO GUZMÁN ALONSO

DIRECTOR DE TESIS: SERGIO RÚBEN TREJO ESTRADA

TEPETITLA DE LARDIZABAL, TLAXCALA

RESUMEN

En un trabajo previo sobre aislamiento de cepas de actinomicetos con actividad fitoreguladora, se identificó una cepa de *Streptomyces* (1M5a), que presentó un efecto herbicida contra semillas de jitomate (Spezzia-Mazzocco y col, 2002; Cercado-Jaramillo y col, 2004). La cepa 1M5a demostró la producción de compuestos difusibles asociados al metabolismo secundario.

En el presente estudio se definió un medio de cultivo útil para el cultivo de 1M5a y la producción de metabolitos herbicidas. Utilizando un medio complejo, SB, se detectó la mayor producción de herbicidas en el 5º día de fermentación a nivel de matraz agitado.

Se mejoraron los métodos de extracción para la recuperación de herbicidas a partir del sobrenadante de fermentación. Los extractos de mayor actividad se detectaron con solventes no polares, señaladamente hexano y tolueno.

La mayor contribución del trabajo consiste en el desarrollo de un método de extracción más eficiente, que es posible por la utilización de mezclas de hexano-isopropanol y cloroformo metanol.

A partir de liofilizados de sobrenadantes de fermentación, y mediante la separación por cromatografía de capa fina, bioautografía, protocolos de extracción en fase sólida, se generaron preparaciones purificadas con gran actividad herbicida, particularmente activas en la inhibición de germinación de semillas de jitomate (utilizado como sistema modelo de dicotiledóneas). Las preparaciones se analizaron por HPLC acoplada a detección por arreglo de diodos. Un solo pico activo, a los 3 min, fue eluído en una columna de sílica normal con hexano al 100% en la fase móvil.

ABSTRACT

In a previous work on isolation of actinomycete strains with plant growth regulation activity against tomato seeds (1M5a) was identified, along with a potent herbicide against tomato seeds (Spezzia-Mazzocco y col, 2002; Cercado-Jaramillo y col, 2004). It was demonstrated that the strain 1M5a produced diffusible compounds associated to secondary metabolism in the producing strain.

In the present study, a culture medium formulation was defined, which allowed for the production of herbicide metabolites. By the use of a complex medium (SB), the highest herbicide production was detected at day 5 of fermentation in shaken flask.

In the course of this study, extraction methods were improved, for the recovery of herbicidal compounds from the fermentation supernatants. The extracts with the highest activity were detected when non-polar solvents were used, specifically hexane and toluene.

The most important contribution of the study is the development of an extraction method with higher efficiency, made possible by the use of solutions made of either hexane-isopropanol, or chloroform-methanol.

Starting from lyophilized preparations of fermentation supernatants, and by the use of thin layer chromatography, bioautography and solid phase extraction protocols, highly purified preparations with herbicidal activity were particularly active in the inhibition of germination of tomato seeds (as a model system for dicotyledonous plants). Purified preparations were analyzed by HPLC coupled to diode array detection. A single active peak, was eluted at minute 3 in a normal phase column with pure hexane as the mobile phase.