

III Reunión Nacional de Carotenoides y I Reunión Hispano-Portuguesa de Carotenoides

Acumulación simultánea de astaxantina y luteína en cultivos continuos de la microalga *Chromochloris zofingiensis*

*Ramos-González, Marcos**; *Romero-Campero, Fco. José** y *García-González, Mercedes*
*Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (CSIC-US). *Dpto. Ciencias de la Computación e*
Inteligencia Artificial. Facultad de Matemáticas. Universidad de Sevilla

Las microalgas son una fuente natural de compuestos de alto valor, entre los que destacan los carotenoides. La combinación de características inherentes a las plantas terrestres, como la fotosíntesis oxigénica y requisitos nutricionales sencillos, junto con los atributos biotecnológicos de las células microbianas, hacen de estos organismos un modelo perfecto para la generación de estos compuestos. La microalga *Chromochloris zofingiensis* ha sido ampliamente reconocida como fuente de astaxantina.

El objetivo del presente estudio fue investigar la acumulación de carotenoides en la microalga *C. zofingiensis* en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno y luz, factores que modulan la síntesis de estos pigmentos. Los cultivos se mantuvieron en condiciones fotoautotróficas, en régimen continuo, modificándose la tasa de dilución, el nitrato aportado en el medio y la irradiancia incidente. Los resultados obtenidos permitieron determinar las condiciones que favorecían la acumulación de los distintos carotenoides. Así, cuando el nitrógeno presente en la biomasa era inferior al 4% del peso seco, se acumulaba astaxantina, mientras que con un 9% de nitrógeno en la biomasa se favorecía la síntesis de luteína. En cuanto a la luz, la irradiancia promedio afectó positivamente a la acumulación de luteína tanto en condiciones de alto como de bajo nitrato, sin embargo, el contenido de astaxantina sólo aumentó con la irradiancia en condiciones de limitación de nitrógeno.

Analizando de manera conjunta los perfiles de acumulación de carotenoides y los niveles de expresión de los genes implicados en la ruta de biosíntesis de estos pigmentos, se determinó que el factor que desencadena una respuesta más significativa en la acumulación de astaxantina y luteína era la disponibilidad de nitrógeno, existiendo una sinergia entre este parámetro y la irradiancia disponible, que modulaba las respuestas individuales a ambos estreses. La regulación parece estar orquestada a varios niveles: el patrón de expresión de las ciclasas sugiere una redirección del licopeno hacia el β -caroteno en condiciones de nitrógeno limitantes, que se transforma en astaxantina por sobreexpresión de BKT1. A su vez, en estas condiciones, se alcanzan valores ligeramente superiores de luteína por alteración de la relación α -caroteno/luteína, debido a la regulación al alza de CYP97A1 y CYP97C, especialmente cuando se une a condiciones de alta irradiancia.

La adecuada disponibilidad de nitrógeno modulada por la disponibilidad de luz permitiría ajustar la acumulación simultánea de luteína y astaxantina mejorando el potencial de *C. zofingiensis* como fuente natural de ambos pigmentos.

Palabras clave: luteína, astaxantina, microalgas, cultivos continuos

Participación preferida: oral

III Reunión Nacional de Carotenoides y I
Reunión Hispano-Portuguesa de Carotenoides

**Simultaneous accumulation of astaxanthin and
lutein in continuous cultures of the microalga
*Chromochloris zofingiensis***

*Ramos-González, Marcos**; Romero-Campero, Fco. José* and García-González, Mercedes
Institute of Plant Biochemistry and Photosynthesis (CSIC-US). *Dept. of Computer Science and Artificial
Intelligence, Faculty of Mathematics. University of Seville.

Microalgae are a natural source of high-value compounds, most notably carotenoids. The combination of inherent characteristics of terrestrial plants, such as oxygenic photosynthesis and simple nutritional requirements, together with the biotechnological attributes of microbial cells, make these organisms a perfect model for the generation of these compounds. The microalga *Chromochloris zofingiensis* has been widely recognized as a source of astaxanthin.

The aim of the present study was to investigate the accumulation of carotenoids in the microalga *C. zofingiensis* in response to nitrogen and light availability, factors that modulate the synthesis of these pigments. The cultures were maintained under photoautotrophic conditions, in a continuous regime, modifying the dilution rate, the nitrate supplied in the medium and the incident irradiance. The obtained results made it possible to determine the conditions that favored the accumulation of the different carotenoids. Thus, when the nitrogen present in the biomass was less than 4% of the dry weight, astaxanthin accumulated, while 9% nitrogen in the biomass favored the synthesis of lutein. As for light, average irradiance positively affected lutein accumulation under both high and low nitrate conditions, however, astaxanthin content only increased with irradiance under nitrogen-limiting conditions.

By jointly analyzing carotenoid accumulation profiles and expression levels of genes involved in the biosynthesis pathway of these pigments, it was determined that the factor triggering the most significant response in astaxanthin and lutein accumulation was nitrogen availability, and that a synergy between this parameter and available irradiance existed, which modulated individual responses to both stresses. Regulation appears to be orchestrated at several levels: the expression pattern of cyclases suggests a redirection of lycopene to β -carotene under nitrogen-limiting conditions, which is transformed into astaxanthin by overexpression of BKT1. In turn, under these conditions, slightly higher lutein values are reached by alteration of the α -carotene/lutein ratio, due to up-regulation of CYP97A1 and CYP97C, especially when coupled with high irradiance conditions.

Adequate nitrogen availability modulated by light availability would allow adjusting the simultaneous accumulation of lutein and astaxanthin, enhancing the potential of *C. zofingiensis* as a natural source of both pigments.

Keywords: lutein, astaxanthin, microalgae, continuous cultures

Preferred participation: oral