

SP-P26

Determinación de la producción de Melatonina e intermediarios de su síntesis por bacterias mediante HPLC-DAD

M. F. Jofré^{a*}, A. C. Cohen^a, M. F. Silva^a, J. V. Gomez Federico^a

^a Instituto de Biología Agrícola de Mendoza - (IBAM-CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, Mendoza, Argentina

* email: florjofre@gmail.com

El gran número de funciones atribuidas a melatonina (MT) y su rol en la protección de las plantas frente a distintas situaciones de estrés, ha inspirado nuevas investigaciones utilizando un grupo de bacterias benéficas, conocidas como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPRs, por el inglés Plant Growth Promoting Rhizobacterias), como una posible fuente de MT. Algunos de los intermediarios en la síntesis de MT son el L-triptófano (Trp) y serotonina (5-HT), siendo Trp el precursor de su síntesis. Recientemente se ha demostrado que bacterias endofíticas como *Pseudomonas fluorescens* RG11 producen MT a partir de Trp y que este estimula la producción endógena de MT en raíces de vid. Dado que aún no se han estudiado las rutas de síntesis de MT en bacterias, es importante determinar no solo la producción de MT sino también de los intermediarios de su síntesis. Este trabajo se enmarca dentro del estudio del rol de la melatonina producida por PGPRs en la interacción con plantas creciendo en condiciones de estrés hídrico y salino. Nuestro objetivo fue desarrollar y validar una metodología analítica mediante HPLC-DAD para determinar la producción de MT e intermediarios de su síntesis por bacterias. Para los ensayos se utilizaron bacterias que fueron colectadas durante la fase exponencial de crecimiento. Una alícuota de 1 mL del medio de cultivo se sonicó por 10 min y luego se centrifugó a 13000 rpm durante 5 min. El sobrenadante fue diluido con un volumen igual de MeOH (1:1) para la posterior cuantificación de los analitos. La separación se llevó a cabo inyectando 0,6 mL min⁻¹ de muestra en una columna Zorbax SB-Aq. La fase móvil binaria consistió en agua con 0,1% (v/v) de ácido fórmico (A) y acetonitrilo (ACN) (B). La longitud de onda utilizada para la detección fue de 280 nm. El tiempo total de la corrida cromatográfica fue de 12 min. Se detectó exitosamente la presencia de MT y triptófano (Trp) en muestras de PGPRs. Esta metodología permitirá analizar de manera rápida y eficaz la producción de MT y sus intermediarios por bacterias, en plantas inoculadas sometidas a distintas situaciones de estrés.

¹ Arnao MB, Hernández-Ruiz. *Annals of Botany* 2018, 121: 195–207.

² Erland LAE, Saxena PK. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant* 2018, 54: 3

³ Gomez FJV, Hernández IG, Martínez LD, Silva MF, Cerutti S (2013) *Electrophoresis* 34(12): 1749-1756;

⁴ Jiao J, Ma Y, Chen S, Liu C, Song Y, Qin Y, Yuan C, Liu Y. *Frontiers in Plant Science* 2016, 7:1–13.

⁵ Ma Y, Jiao J, Fan X, Sun H, Zhang Y, Jiang J, Liu C. *Frontiers in Plant Science* 2017, 7: 2068.

⁶ Sharif, R.; Xie, C.; Zhang, H.; Arnao, M.B.; Ali, M.; Ali, Q.; Muhammad, I.; Shalmani, A.; Nawaz, M.A.; Chen, P.; Li, Y. *Molecules* 2018, 23: 2352.