

**Tabla S1. Producción total de carotenoides de *R. mucilaginosa* en diferentes medios de cultivo (Elshonty et al., 2017).**

Growth media	Growth characteristics	Incubation time (days)					
		1	2	3	4	5	6
Yeast and malt	Biomass (g/l)	7.72	11.6	14.6	12.0	10.5	10.5
	Carotenoids (mg/l)	7.45	12.4	16.96	13.1	9.28	9.10
	Productivity (mg/g)	0.965	1.07	1.160	1.09	0.883	0.865
Yeast nitrogen base	Biomass (g/l)	8.72	11.6	13.03	13.0	10.9	8.99
	Carotenoids (mg/l)	6.51	13.4	15.89	12.7	9.28	3.00
	Productivity (mg/g)	0.747	1.16	1.219	0.982	0.851	0.334
Liquid basal medium	Biomass (g/l)	8.76	11.6	13.62	12.2	9.61	7.92
	Carotenoids (mg/l)	6.63	12.5	14.96	12.1	8.29	6.01
	Productivity (mg/g)	0.757	1.08	1.098	0.986	0.863	0.759

*Tabla S1. Comparación de la productividad de carotenoides y biomasa de *R. mucilaginosa* con otros medios de cultivo*

**Tabla S2. Producción total de carotenoides de *R. mucilaginosa* sin ninguna optimización al medio.**

Time (h)	Total Carotenoids ( $\mu\text{g/g}$ )	L*	a*	b*
0	0.00 $\pm$ 0.00 <sup>i</sup>	3.89 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup>	0.25 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	0.07 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
6	42.47 $\pm$ 6.93 <sup>h</sup>	3.90 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.20 <sup>e</sup>	0.24 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>
12	160.57 $\pm$ 16.18 <sup>g</sup>	3.25 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>	0.33 $\pm$ 0.20 <sup>e</sup>	1.19 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>
24	215.19 $\pm$ 19.27 <sup>f</sup>	3.26 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	0.46 $\pm$ 0.10 <sup>de</sup>	1.50 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
36	327.07 $\pm$ 35.21 <sup>e</sup>	2.91 $\pm$ 0.52 <sup>bc</sup>	0.79 $\pm$ 0.11 <sup>cd</sup>	1.46 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>
48	509.78 $\pm$ 49.12 <sup>d</sup>	3.16 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup>	0.88 $\pm$ 0.27 <sup>bc</sup>	1.51 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>
60	630.28 $\pm$ 31.66 <sup>c</sup>	2.37 $\pm$ 0.14 <sup>cd</sup>	1.05 $\pm$ 0.37 <sup>abc</sup>	1.40 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>
72	764.37 $\pm$ 12.73 <sup>b</sup>	2.46 $\pm$ 0.17 <sup>cd</sup>	1.21 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	1.55 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
84	803.27 $\pm$ 12.04 <sup>a</sup>	2.38 $\pm$ 0.15 <sup>cd</sup>	1.39 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	1.38 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
96	813.44 $\pm$ 10.37 <sup>a</sup>	2.17 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>	1.17 $\pm$ 0.37 <sup>abc</sup>	1.00 $\pm$ 0.20 <sup>cd</sup>
108	813.79 $\pm$ 6.08 <sup>a</sup>	2.36 $\pm$ 0.17 <sup>cd</sup>	1.28 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	0.98 $\pm$ 0.04 <sup>cd</sup>
120	819.23 $\pm$ 8.52 <sup>a</sup>	2.10 $\pm$ 0.13 <sup>d</sup>	1.36 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.93 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>

Results are represented as mean  $\pm$  standard deviation

\*Means with different superscripts in a column differ significantly ( $p < 0.05$ )

*Tabla S2. Cuantificación de carotenoides producidos vs biomasa de *R. mucilaginosa* en medios no optimizados, donde L\* representa el brillo de las cepas (valores entre 2.10-3.90), a\* significa la coloración roja (valores entre 0.24-1.39) y b\* indica la coloración amarilla (valores entre 0.07-1.55), tomado de Sharma & Goshal (2021)*

**Tabla S3. Producción de carotenoides de algunas plantas reportadas en literatura.**

**Table 2** Potential vegetable resources rich in  $\beta$ -carotene

Vegetable resources	Carotenoids ( $\mu\text{g/g}$ )	$\beta$ -carotene (%)	References
Carrot ( <i>Daucus carota</i> )	85–174	49–65	Rodríguez-Amaya 2001
Palm (oil) ( <i>Elaeis guineensis</i> )	470–700	54.4	Rodríguez-Amaya 2001
Sweet potato ( <i>Ipomoea batatas</i> )	160–226	92–95	Rodríguez-Amaya et al. 2008
Buriti (fruit) ( <i>Mauritia vinifera</i> )	513.9	72.5	De Rosso and Mercadante 2007;
Buriti (oil)	1,150–3,380		Rodríguez-Amaya 2001
Barbados cherry ( <i>Malpighia glabra</i> )	8.8–18.8	69.8–90.6	De Rosso and Mercadante 2005
Tucumã ( <i>Astrocaryum aculeatum</i> )	62.6–96.6	75.6–89.3	Marinho and Castro 2003;
			De Rosso and Mercadante 2007
Pajurá ( <i>Couepia bracteosa</i> )	17.8	92.1	Marinho and Castro 2003
Piquiá ( <i>Caryocar villosum</i> )	21	85.4	Marinho and Castro 2003
Umari ( <i>Poraqueiba sericea</i> )	102.9	78.9	Marinho and Castro 2003

**Tabla S3.** Capacidad productiva de diferentes tipos de plantas de carotenoides y sus respectivas fuentes, tomado de Dias Ribeiro, Weingart, & Coelho (2011).

**Tabla S4. Producción de antioxidantes de microorganismos reportados en literatura.**

	Strain	Metabolic engineering strategy	Concentration (mg/L)	Reference
Native	<i>C. reinhardtii</i>	Overexpression of <i>crtYB</i> from <i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>	22.8 mg/g dry biomass	Rathod et al. (2019)
	<i>C. reinhardtii</i>	Introduction of the phytoene synthase gene ( <i>CzPSY</i> ) from the green microalga <i>Chlorella zoofingensis</i>	Dominant in carotenoid	Cordero et al. (2011)
Heterologous	<i>E. coli</i> DH5 $\alpha$	Transformed with the <i>crt</i> genes ( <i>crtE</i> , <i>crtI</i> , <i>crtB</i> and <i>crtY</i> ) from <i>E. ureidovorae</i> and IPF isomerase (IDI) from <i>E. coli</i> K-12 strain W3110	390	Kim et al. (2006)
	<i>E. coli</i>	Transformed with pET28a plasmid carrying <i>mvaK1</i> , <i>mvaK2</i> and <i>mvaD</i> from <i>Enterococcus faecium</i> VTCC-B-935, co-expression of this vector with pRSET-1EIBY of <i>P. ananatis</i>	65	Nam et al. (2017)
	<i>E. coli</i>	Using the RBS library to regulate the expression of the key genes <i>dxs</i> , <i>idi</i> and <i>crt</i> in the $\beta$ -carotene synthesis pathway	2160	Dai et al. (2014)
	<i>E. coli</i>	Regulation of eight genes in the terpenoid synthesis pathway, such as <i>dxs</i> , <i>dxr</i> , <i>ispDF</i> , <i>ispE</i> , <i>ispG</i> , <i>ispH</i> , <i>idi</i> and <i>ispA</i>	17.59 mg/g dry biomass	(Zhao, Liu, Li, Zhu, & Zhang, 2013b)
	<i>E. coli</i>	Introducing <i>crtY</i> gene into lycopene producing <i>E. coli</i> and introducing a series of artificially designed ribosomal binding sites (RBS) with different strengths to optimize the <i>crtY</i>	1900	Jim et al. (2017)
	<i>E. coli</i> DH5 $\alpha$	Transformed with pSTV28 containing <i>mvaE</i> and <i>mvaS</i> of <i>E. faecalis</i> , <i>mvaK1</i> , <i>mvaK2</i> and <i>mvaD</i> of <i>S. pneumoniae</i> and <i>idi</i> of <i>E. coli</i>	465	Yoon et al. (2009)
	<i>E. coli</i> DH5 $\alpha$	Contains plasmid pT-DHB constructed by cloning <i>crtE</i> , <i>crtB</i> , and <i>crtI</i> from <i>P. agglomerans</i> , <i>ipHP1</i> from <i>Haematococcus pluvialis</i> , <i>crtY</i> from <i>Pantoea ananatis</i> , and <i>dxs</i> from <i>E. coli</i> , and plasmid pS-NA constructed by cloning <i>mvaE</i> and <i>mvaS</i> from <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC14508, <i>mvaK1</i> , <i>mvaK2</i> , and <i>mvaD</i> from <i>Streptococcus pneumoniae</i> , and <i>idi</i> from <i>E. coli</i>	663	Kim et al. (2009)
	<i>E. coli</i> DH5 $\alpha$	Transformed pTrc99A plasmid carrying <i>crtE</i> , <i>crtB</i> , <i>crtI</i> , <i>crtY</i> , <i>dxs</i> , <i>ipHP1</i> and a pS-NA plasmid carrying <i>mvaE</i> , <i>mvaS</i> , <i>mvaK1</i> , <i>mvaK2</i> , <i>mvaD</i> and <i>idi</i> genes into each strain by electroporation	2470	Nam et al. (2013)
	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	YJM49 strain containing the native MVA pathway and the optimized MEP pathway, the gene for <i>GPPS2</i> from <i>Abies grandis</i>	3200	Yang and Guo (2014)
	<i>E. coli</i>	Inserting <i>Hmg1-erg12</i> , <i>mvas</i> , <i>mvaA</i> and <i>mavD1</i> genes into <i>E. coli</i> chromosome, and modulation of two key enzymes <i>mvas</i> and <i>Hmg1</i> with degenerate RBS library	1.52 mg/g dry biomass	Ye et al. (2016)
	<i>E. coli</i>	Integrating $\beta$ -carotene synthetic genes of <i>P. agglomerans</i> into <i>E. coli</i> chromosome, dividing $\beta$ -carotene synthetic pathway in recombinant <i>E. coli</i> into 5 modules, regulating important genes of these five modules	2100	(Zhao et al., 2013a)
	<i>E. coli</i>	The overexpressed membrane bending protein and the engineered membrane synthesis pathway work together; the membrane engineering strategy was applied to CAR025 strain with high $\beta$ -carotene yield	19.6 mg/g dry biomass	Wu et al. (2017)
	<i>E. coli</i>	A novel artificial transport system (AMVTS) was constructed and applied to the CAR025 strain with high $\beta$ -carotene yield	44.8 mg/g dry biomass	Wu et al. (2019)
	<i>E. coli</i>	Overexpression of five heterologous genes ( <i>crtE</i> , <i>crtB</i> , <i>crtI</i> , <i>crtY</i> and <i>gpo</i> ), knockout of the <i>zwf</i> gene and knockout of the <i>psuH1err</i> operon and deletion of the <i>yjgB</i> gene together with <i>nadK</i> overexpression.	266.4	(Wu et al., 2020)
	<i>R. sphaeroides</i>	Using five promoters of different strengths to investigate the effect of the expression level of <i>crtY</i> , blocking of the branched pentose phosphate pathway by <i>zwf</i> deletion and overexpressing <i>dxs</i>	14.93 mg/g dry biomass	Qiang et al. (2019)
	<i>S. cerevisiae</i>	Overexpression of <i>crtE</i> <i>crtYB</i> and <i>crtI</i> from <i>X. dendrorhous</i> , and overexpression of GGFP synthase and two copies of <i>tHMG1</i> from <i>S. cerevisiae</i>	5.9 mg/g dry biomass	Verwaal et al. (2007)
	<i>S. cerevisiae</i>	Cloned <i>crtE</i> , <i>crtYB</i> and <i>crtI</i> of <i>P. rhodosymba</i> CGMCC 2.1557 into <i>Saccharomyces cerevisiae</i> INVSc1 and expressed the catalytic domain of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from <i>S. cerevisiae</i> (Sc-EYBIH)	528.8 $\mu$ g/g dry biomass	Shi et al. (2014)
	<i>Y. lipolytica</i>	Introducing <i>crtI</i> and <i>crtYB</i> from <i>X. dendrorhous</i> into <i>Y. lipolytica</i> through the CRISPR/Cas9 system, fine tuning of the cytoplasmic acetyl-CoA pool	613.87	Yin et al. (2017)
	<i>S. cerevisiae</i>	Overexpression of the <i>crtE</i> , <i>crtYB</i> , <i>crtI</i> genes from <i>P. rhodosymba</i> and the functional domains of <i>HMG1</i> from <i>S. cerevisiae</i> , expressing another transcription <i>crtI</i> gene	1136.17 $\mu$ g/g dry biomass	Zhan and Shi (2014)
	<i>S. cerevisiae</i>	Site-specific optimization of <i>crtI</i> and <i>crtYB</i> , 5 <i>crtI</i> codons and 8 <i>crtYB</i> codons were mutated	390 $\mu$ g/g dry biomass	Li et al. (2013)
	<i>S. cerevisiae</i>	Overexpression of several new gene targets that are outside the isoprenoid pathway	5.9 mg/g dry biomass	Li et al. (2017)
	<i>Y. lipolytica</i>	Overexpressing the <i>GGS1</i> gene of <i>Y. lipolytica</i> , carrying the <i>carB</i> and <i>carRP</i> genes from <i>M. circinelloides</i>	2.2 mg/g dry biomass	Gao et al. (2014)
	<i>Y. lipolytica</i>	Using strong promoters and multiple gene copies for each of the 12 steps from high-throughput acetyl-coA to $\beta$ -carotene	4000	Gao et al. (2017b)
	<i>Y. lipolytica</i>	Introducing the <i>carB</i> and <i>carRP</i> genes of <i>M. circinelloides</i> into <i>Y. lipolytica</i> XK2, increasing the copy numbers of the <i>carB</i> and <i>carRP</i> genes and overexpressing <i>GGS1</i> , <i>ERG13</i> and <i>HMG</i>	4500	Zhang et al. (2020)
	<i>Y. lipolytica</i>	Developing a combinatorial synthetic biology approach based on Golden Gate DNA assembly to screen the optimal promoter-gene pair for each transcription unit expressed	6500	Larroude et al. (2018)
	<i>Y. lipolytica</i>	Overexpressing the gene <i>erg13</i> encoding hydroxymethylglutaryl-CoA synthase and the unique hexokinase gene ( <i>Hxk</i> ) in the engineered <i>Y. lipolytica</i> which integrating the <i>tHMG</i> , <i>GGS1</i> genes of <i>Y. lipolytica</i> and the <i>carRA</i> and <i>carB</i> genes from <i>B. trispora</i>	2400	Qiang et al. (2020)

Tabla S4. Variedad de microorganismos de forma natural y mediante expresión heteróloga, tomado de Lin et al. (2021)

## Tabla S5. Metodologías para la obtención de betacarotenos sin el uso de ingeniería metabólica.

**Table 2**  
Non-metabolic engineering method to produce  $\beta$ -carotene.

	Microorganism	Substrate	Fermentation mode	Concentration (mg/L)	Productivity (mg/L/h)	Reference
Yeast	<i>Rhodospiridium</i>	Glucose	Shake flask culture	5.112	0.0426	Kim et al. (2010)
	<i>R. glutinis</i>	Palm oil	Agitator bioreactor	320	13.3	Yen et al. (2019)
	<i>R. glutinis</i>	Rice bran	Solid-state fermentation	1.65 mg/kg rice bran	N.A.	(Roadjanakamolson & Suntornsuk, 2010)
	<i>R. glutinis</i>	Hydrolyzed mung bean waste flour and sweet potato extract	Shake flask culture	3.48	0.0366	Tinoi et al. (2005)
	<i>R. glutinis</i>	Molasses	Stirred tank fermenter	185	2.102	Bhosale and Gadre (2001)
	<i>R. acheniorum</i>	Whey ultrafiltrate	Shake flask culture	262.12	5.460	Nasrabadi and Razavi (2011)
Filamentous fungi	<i>Rhodotorula rubra</i>	Soap stock	Airlift bioreactor	N.A.	23.4	Taavoni et al. (2018)
	<i>B. trispora</i>	Linoleic acid, kerosene, and antioxidant	Shake flask culture	2880	15	Mantzouridou et al. (2002)
	<i>B. trispora</i>	D-glucose, wheat bran extract, MgSO <sub>4</sub> , soybean oil, thiamine, soybean meal, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , $\beta$ -ionone (stirred tank reactor)	Shake flask culture stirred tank reactor	643 1357	17.86 37.69	Yan et al. (2013)
	<i>B. trispora</i>	Molasses solution containing sugar, linoleic acid, kerosene and antioxidants	Bubble Column Reactors	360.2	5.146	Goksungur et al. (2004)
	<i>B. trispora</i>	Molasses solution supplemented with linoleic acid, kerosene, and antioxidants	Shake flask culture	790.0	N.A.	Goksungur et al. (2002)
	<i>B. trispora</i>	Deproteinized whey supplemented with olive oil, cottonseed oil and soybean oil	Shake flask culture	3050	15.88	Roukas et al. (2003)
	<i>B. trispora</i>	Corn steep liquor, yeast extract, casein acid hydrolysate and L-asparagine	Modified rotary biofilm reactor	230	2.396	Roukas (2018)
	<i>B. trispora</i>	glucose, corn steep liquor, yeast extract, casein acid hydrolysate, L-asparagine	Bubble column reactor	85.0 mg/g dry biomass	N.A.	Nanou et al. (2012)
Microalgae	<i>Spirulina</i>	NaHCO <sub>3</sub> with the pH value adjusted to 7.5 with 10 mM Tris-buffer, and 1.5 M NaCl	Culture medium	9	0.0125	Xu et al. (2018)
	<i>D. salina</i>	N.A.	N.A.	138.3 mg/g dry biomass	N.A.	Zhang et al. (2014)
	<i>V. stellata</i>	BG-11 medium	Bubble column photobioreactor	54.5 mg/g dry biomass	N.A.	Li et al. (2012)

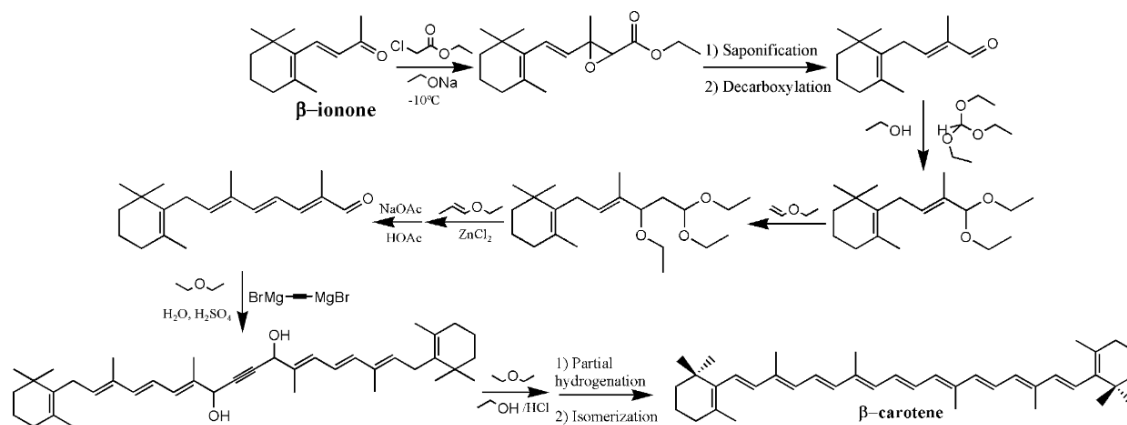
**Tabla S5.** Producción de betacarotenos de diferentes microorganismos y algas sin emplear técnicas de ingeniería metabólica, tomado de Lin et al (2021).

**Tabla S6.** Primers empleados para obtener los genes involucrados en la biosíntesis de betacarotenos.

Molecular target	Primer name	Sequence	Amplicon size (bp)
HMG1	HMG1F	5'-TCACGCTCCACTCGCTCAAC-3'	128
	HMG1R	5'-CGAGGACAAGATGGGGTTGG-3'	
ERG12	ERG12F	5'-CAGTCGGCGCAGGGCTTCTT-3'	172
	ERG12R	5'-GGACGCGGTGCGAGTAGAGC-3'	
CAR2	CAR2F	5'-CCTTCCTCGCCAACGCCTCT-3'	111
	CAR2R	5'-CGTTGTTGGCGTACAGGAGG-3'	
CAR1	CAR1F	5'-CGTCCCTCGCTCTACCTCA-3'	131
	CAR1R	5'-CCTTGTCGGGAAGACGATG-3'	
CAR0	CAR0F	5'-CCGTCGGGTACTACAGTCTC-3'	163
	CAR0R	5'-TAGCTCAGATATGGCGGCAA-3'	
SOD2	SOD2F	5'-CCTCGAAGCACCACCAGA-3'	158
	SOD2R	5'-CACCGCGTTGAACCTTGATG-3'	
CTA1	CTA1F	5'-TCTCGCACACAAGGCTCTCC-3'	149
	CTA1R	5'-TCAGGTCCCTCGCTCCCTTG-3'	
CaLP	CaLPF	5'-CCTTCGCCCAGTGGCAAG-3'	170
	CaLPR	5'-GGCGGTAACGGTGAGTGTC-3'	
ACT1	ACT1AF	5'-CGTTCAGATCCAGGCGTCT-3'	118
	ACT1AR	5'-CGGCAATGCAAACCCTTCAT-3'	
TUB2	TUB2F	5'-CGCACGGTGACCTGAACG-3'	128
	TUB2R	5'-CAGACGCGGGAACGGAAC-3'	

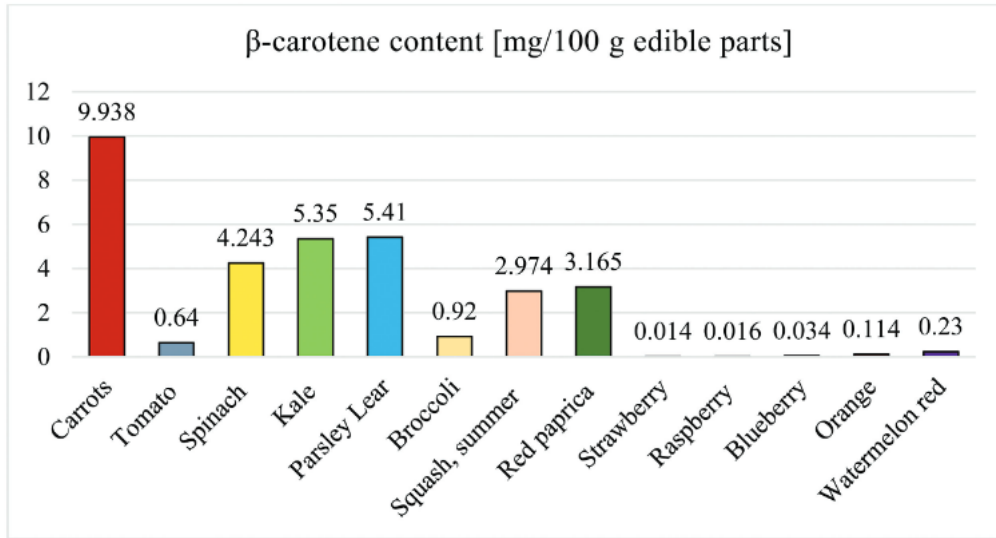
**Tabla S6.** Los primers empleados para la experimentación fueron el HMG1, ERG12, CAR0, CAR1 y CAR2, tomado de Landolfo et al. (2018).

### Figura S1. Pasos para la producción sintética de betacarotenos mediante la condensación de enol-éter.



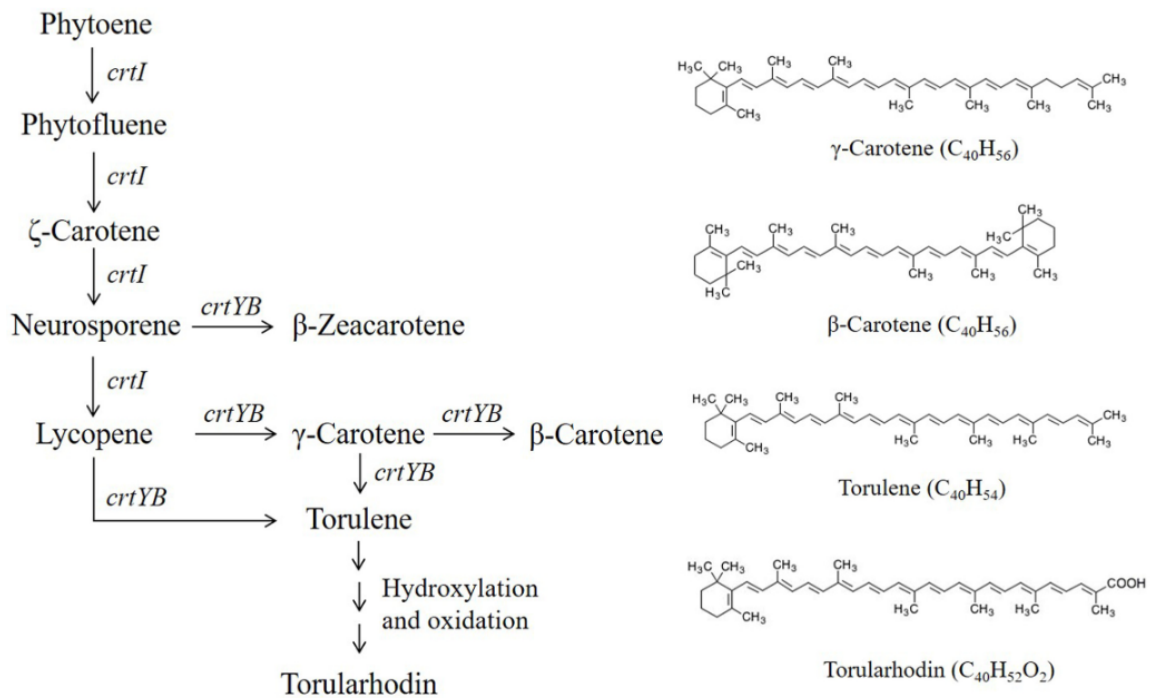
**Figura S1,** Paso a paso del método de condensación de enol-éter en la producción de betacarotenos, tomado de Ribeiro, Weingart, & Coelho (2011).

### Figura S2. Producción de betacarotenos de algunas plantas y frutas reportadas en literatura.



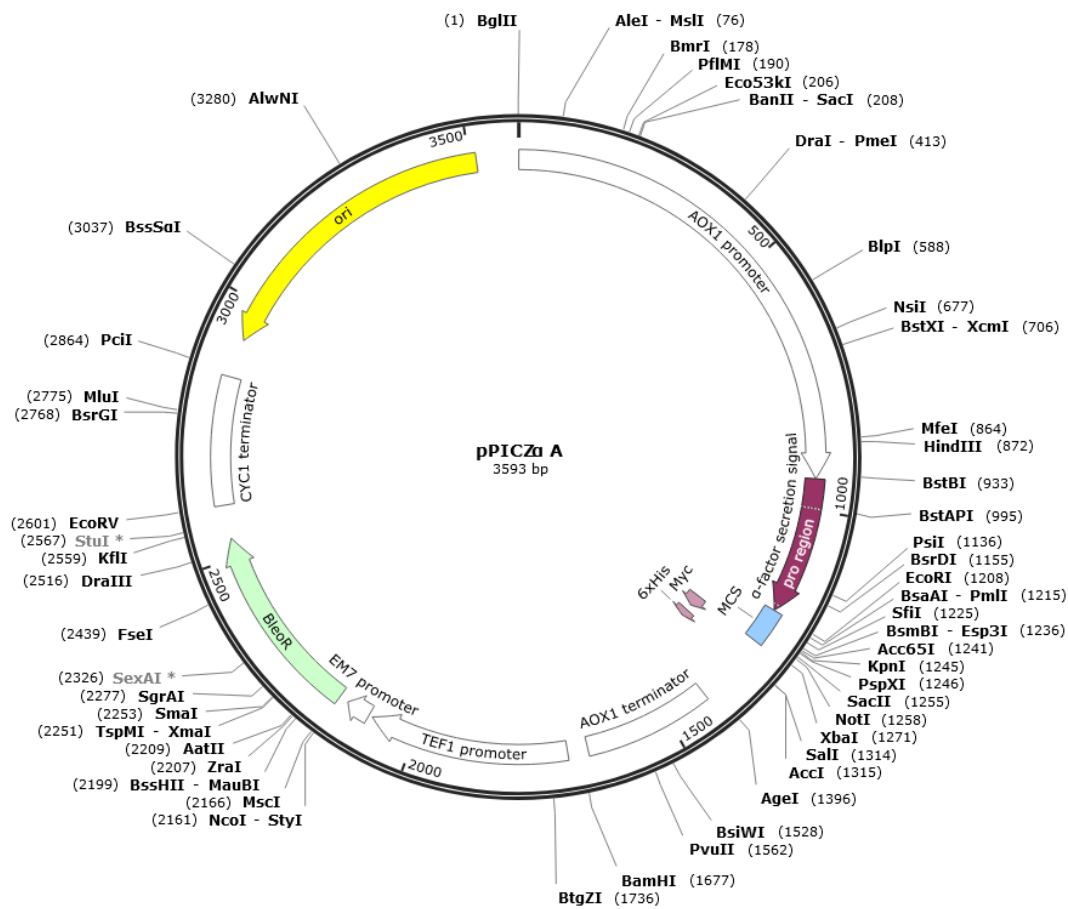
**Figura S2.** Capacidad productiva de diferentes tipos de plantas de carotenoides y frutos, tomado de Bogacz & Harasym (2018).

**Figura S3.** Ruta metabólica para la producción de betacarotenos de la ruta metabólica MVA.



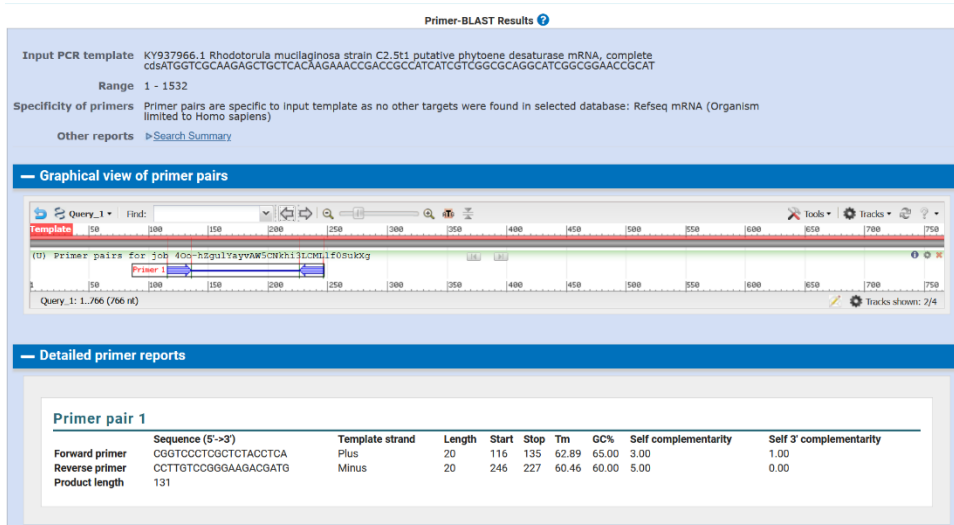
**Figura S3.** Ruta metabólica de los betacarotenos, derivada de la ruta MVA presente en *R. mucilaginosa*, tomado de Wei et al. (2019).

**Figura S4. Vector de expresión comúnmente usado en *E. coli* TOP10 para la producción de carotenoides.**



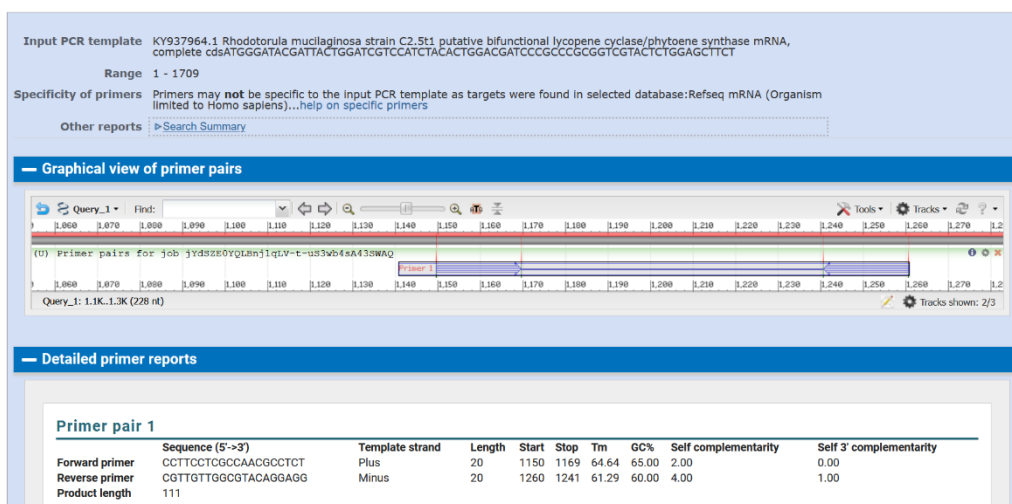
*Figura S4. Vector de expresión empleado en ensayos de producción heteróloga de carotenoides, compuestos para vacunas y medicamentos, productos biotecnológicos, entre otros, tomado de snapgene (s.f.)*

**Figura S5. Verificación *in silico* del producto de PCR del gen CrtI usando como referencia las secuencias de los primers sintetizados**



*Figura S5. Se evidencia que los primers sintetizados para la amplificación de este gen, no amplifica para otros tipo de productos, de acuerdo a la base de datos de NCBI.*

**Figura S6. Verificación *in silico* del producto de PCR del gen CrtYB usando como referencia las secuencias de los primers sintetizados**

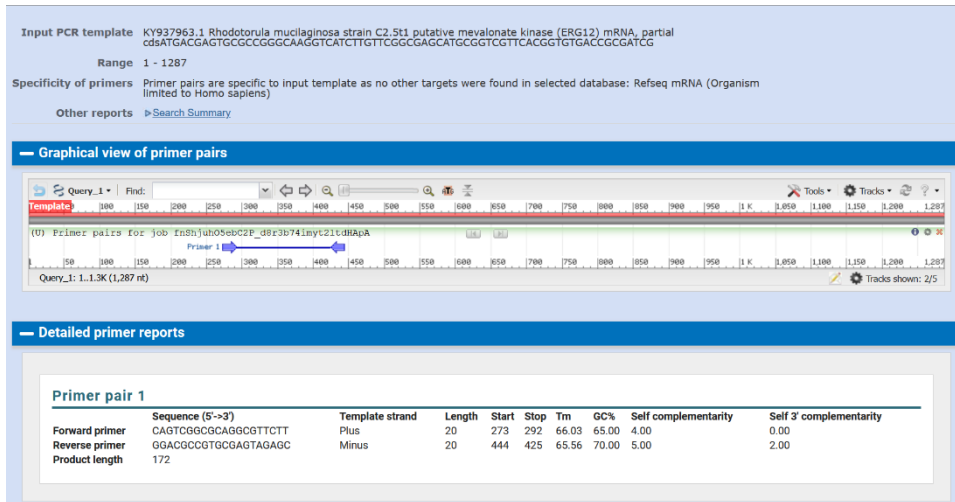


*Figura S6. Se evidencia que los primers sintetizados para la amplificación de este gen, tiene la probabilidad de amplificar otro tipo de productos, de acuerdo a la base de datos de NCBI.*



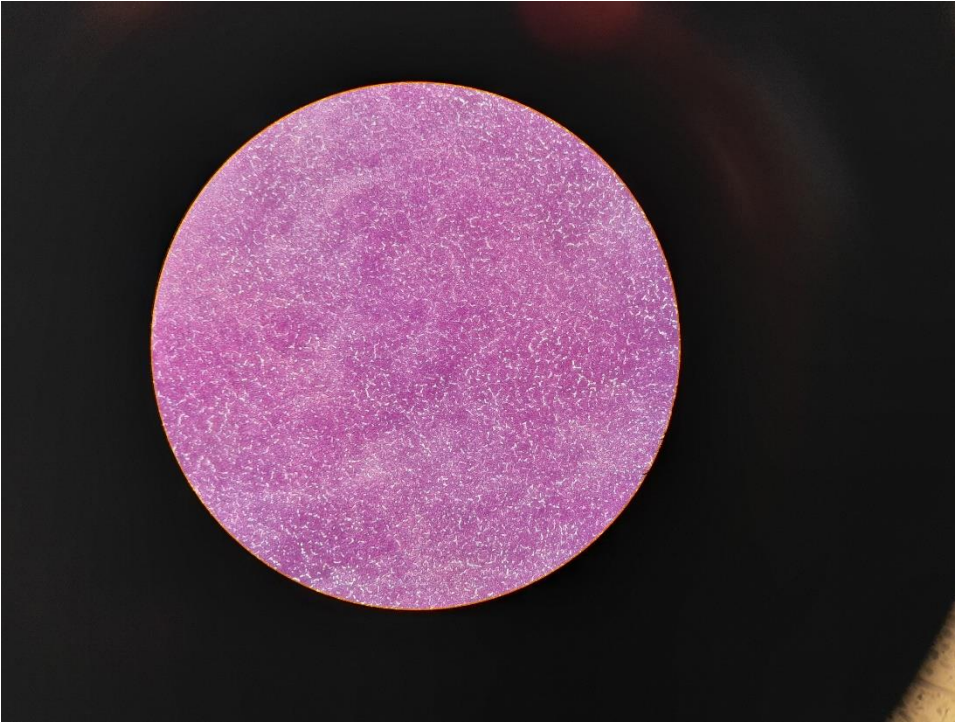
**Figura S8.** Se evidencia que los primers sintetizados para la amplificación de este gen, no amplifica para otro tipo de productos, de acuerdo a la base de datos de NCBI.

**Figura S9. Verificación *in silico* del producto de PCR del gen ERG12 usando como referencia las secuencias de los primers sintetizados**



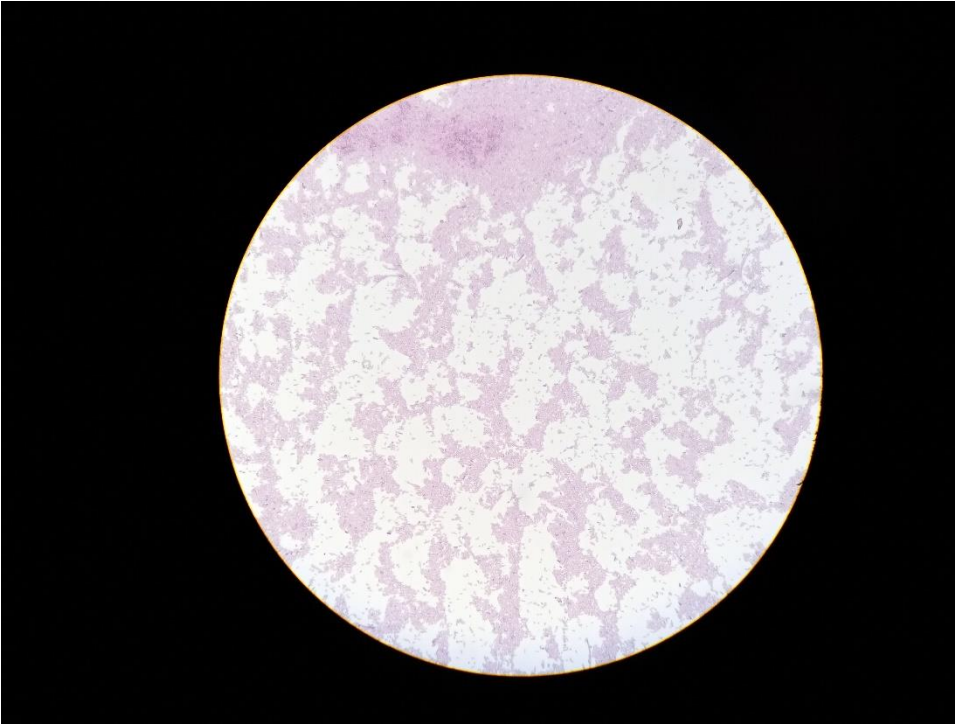
**Figura S9.** Se evidencia que los primers sintetizados para la amplificación de este gen, no amplifica para otro tipo de productos, de acuerdo a la base de datos de NCBI.

**Figura S10. Tinción de gram de *E. coli* TOP10 para la curva de sensibilidad**



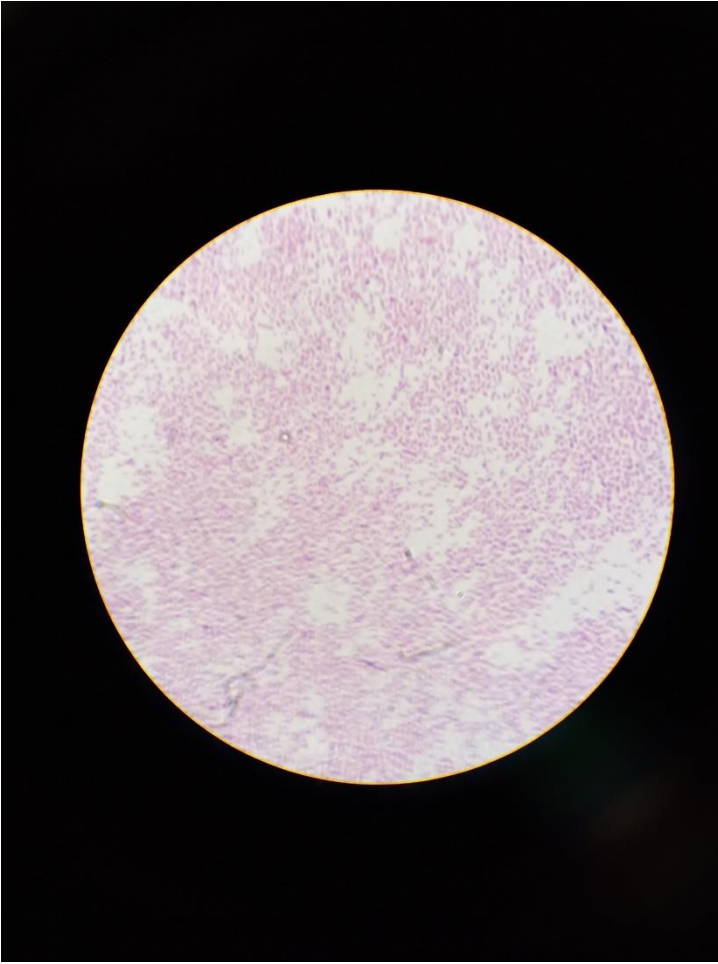
*Figura S10. Se evidenció la presencia de bacilos gram negativos, característica propia del microorganismo E. coli TOP10. Esta es una imagen representativa de las colonias evaluadas.*

**Figura S11. Tinción de gram de colonias presentes en las cajas petri durante la generación de células competentes.**



*Figura S11. Se evidenció la presencia de bacilos gram negativos, característica propia del microorganismo E. coli TOP10. Esta es una imagen representativa de las colonias evaluadas*

**Figura S12 Tinción de gram de colonias presentes en las cajas petri correspondientes a las células transformadas y control de viabilidad**



**Figura S12.** Se evidenció la presencia de bacilos gram negativos, característica propia del microorganismo *E. coli* TOP10 en las cajas de petri con células transformadas y con control de viabilidad. Esta es una imagen representativa.