

## RECRECIMIENTO Y PRODUCCION DE BETACIANINAS EN CULTIVOS EN SUSPENSION DE *Beta vulgaris* L. PERMEABILIZADOS CON GLICEROL.

Fernando Sotelo Olazcoaga<sup>2</sup>, Guadalupe Salcedo Morales<sup>1</sup>, Blanca P. Martínez Bonfil<sup>1</sup>, Antonia de Jesús Sánchez<sup>1</sup> y Antonio Jiménez Aparicio<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. <sup>2</sup>Estudiante de la Maestría en Desarrollo de Productos Bióticos. Apartado Postal 24. Yautepec, Morelos. México. C.P. 62731. (735) 3942020. Fax: (735). 3941896. aaparici@ipn.mx.

Palabras clave: *B. vulgaris*, Betacianinas, permeabilización

**Introducción.** La permeabilización química es una alternativa para cultivos como los de *Beta vulgaris* que acumulan sus metabolitos [betacianinas (BC)] en el interior de vacuolas. Algunos de estos agentes son el Tritón, Tween, (1) y el Glicerol que es un crioprotector (2). Una de las características de las células permeabilizadas es la pérdida de la capacidad de recrecer, posterior al proceso de permeabilización. Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue el recrecimiento y producción de cultivos en suspensión de *B. vulgaris* permeabilizados con glicerol.

**Metodología.** Cultivos en suspensión de *B. vulgaris* (6 días de edad) fueron permeabilizados con 4.34% de glicerol y un tiempo de contacto y de lavado de 15 min (con medio B<sub>5</sub>). Posteriormente, los cultivos fueron inoculados en matraces con 10 ml de medio B<sub>5</sub>, y 1 g de peso fresco de células. Los tiempos de cosecha en la cinética de recrecimiento fueron: 0, 3, 5, 10, 12, 14, 17 y 19 días y se determinó: peso fresco (pf), la concentración de BC evaluada según el método de Nilsson (3) y se realizaron observaciones al microscopio.

**Resultados y discusión.** La figura 1 muestra los perfiles de crecimiento para ambos cultivos siendo éstos diferentes. El CT no presentó una fase lag y alcanzó niveles de biomasa de 150 g pf l<sup>-1</sup> en el día 12; mientras que en el CP se observó una fase lag de 3 días a partir de donde inició la fase logarítmica con una concentración de biomasa de 120 pf l<sup>-1</sup> en el día 14.

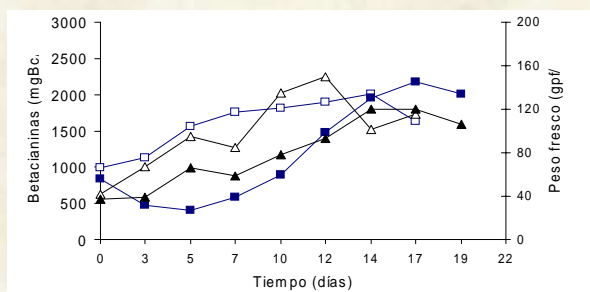


Figura 1. Cinética de crecimiento: CT ( $\Delta$ ) CP ( $\blacktriangle$ ) y producción de BC para CT ( $\square$ ) y CP ( $\blacksquare$ ) en cultivos de *B. vulgaris* permeabilizados con glicerol.

No obstante lo anterior, la velocidad específica de crecimiento en CT y CP fueron similares (CT  $\mu=0.1018$  d<sup>-1</sup> y CP  $\mu=0.0997$  d<sup>-1</sup>). El patrón de crecimiento observado en los cultivos permeabilizados con glicerol fue distinto al que se obtuvo para los cultivos de *B. vulgaris* permeabilizados con Tritón X-100® (4); para estos últimos, se reporta una fase lag de crecimiento de 11 días indicando que podría ser consecuencia del daño provocado por el AQP. En el presente trabajo, aún cuando las fotomicrografías de los cultivos

mostraron en su mayoría células vacías (figura 2B) respecto al CT (figura 2A) es posible que el daño generado en los cultivos permeabilizados con glicerol sea menor respecto a CP con Tritón X-100. No obstante al final de la cinética se observó un mayor número de células pigmentadas (2D). Este comportamiento podría ser el resultado del efecto protector del glicerol sobre las células.

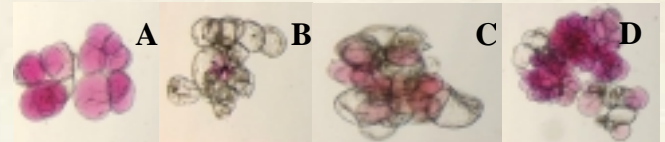


Figura 2. Morfología de las células de *B. vulgaris* durante la cinética de crecimiento y producción: CT(A, t=0); CP (B,C,D T= 0, 12 19 días, después del proceso de permeabilización con glicerol.

Respecto a la producción de BC, (Fig 1), el CT presentó una fase lag de 3 días y enseguida inició la fase logarítmica de manera continua hasta el día 14 con una concentración de BC de 2004 mg de BC l<sup>-1</sup> y una  $\phi$  de producción de 156 d<sup>-1</sup>. Mientras que en el CP se observó una disminución en la producción de 0-5 días a partir de donde inició la fase logarítmica la cual se prolongó hasta el día 17 con una concentración de BC de 2175 mg BC l<sup>-1</sup>. Con una velocidad específica de producción  $\phi=198$  d<sup>-1</sup>, siendo mayor a lo obtenido con el CT.

**Conclusiones.** Las condiciones de permeabilización (4.34 % de glicerol y tiempo de contacto de 15 min), favorecieron la liberación de BC y la capacidad de crecimiento y producción de los cultivos de *B. vulgaris* en niveles similares al CT.

**Agradecimiento.** El trabajo estuvo financiado por CGPI (proyectos 20050074), COFAA y CONACYT 39562.

### Bibliografía.

1. Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., Narayan, M.S. and Ravishankar (2003). Food-Grade chemical and biological agents permeabilized red beet hairy roots, assisting the release of betalains. *Biotechnol. Prog.* 19: 1274-1282.
2. Ishikawa, M., Tandon, P., Suzuki, M and Yamaguishi-Ciampi. (1996). Cryopreservation of bromegrass (*bromus inermis*) suspension cultured cells using slow prefreezing and vitrification procedures. *Plant Sci.* 120: 81-88.
3. Nilsson, T. 1970. Studies into pigments in beet root. *Lanbruks. Anal.* 36:179-190.
4. Salcedo, G. S. (2004). Efecto de algunos agentes químicos permeabilizantes (AQP's) sobre la liberación de betacianinas producidas por cultivos en suspensión de betabel (*Beta vulgaris* L. Var. Crosby Egyptian) *Tesis de Maestría*. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos/IPN. México.