

DETERMINACIÓN POR ANÁLISIS DE IMÁGENES DE LA LIBERACIÓN DE BETALAÍNAS, LA VIABILIDAD Y LA MORFOLOGÍA DE *Beta vulgaris* PERMEABILIZADA CON TRITÓN X-100®

Jonathan Cuevas², Guadalupe Salcedo¹, José Luis Trejo¹, Gabriela Trejo¹ y Antonio Jiménez¹.

¹Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN. Apartado Postal 24. Yautepec, Morelos. México. 62730. Fax: (735) 394 18 96. ²Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología-IPN. gttapia@ipn.mx

Palabras clave: análisis digital de imágenes, *Beta vulgaris*, permeabilización

Introducción. El análisis digital de imágenes (ADI) es una alternativa para determinar las características morfométricas de las células tales como forma y tamaño, además de la viabilidad y el contenido de metabolitos secundarios (1). *Beta vulgaris* (*Bv*) es una especie de interés biotecnológico porque produce betalaínas. Sin embargo, estos compuestos se almacenan en las vacuolas, por lo que la permeabilización con Tritón X-100® (TX100) puede ser una alternativa para inducir la excreción del metabolito siempre que la capacidad de crecimiento y síntesis del metabolito no sea afectada (2). El objetivo fue determinar por ADI la liberación de betalaínas, la viabilidad y la morfología de suspensiones de *B. vulgaris* permeabilizadas con Tritón X-100®.

Metodología. Se determinó el efecto del tiempo de contacto (0.25 y 3 h) con TX100 (0-0.9 mM) sobre suspensiones celulares de *Bv* (fenotipo rojo púrpura) de 6 días de edad. La liberación de betalaínas, viabilidad y morfología de los agregados celulares (AC) de *Bv* fueron determinadas por ADI (3,4). La liberación de betalaínas fue medida con base en el aumento en el área no pigmentada (ANP) de los AC con respecto al control (suspensiones no permeabilizadas). La forma fue medida con base en la relación entre largo y ancho de los AC que equivale al factor de forma elíptica (FFE). FFE = 1 corresponde a un objeto redondo.

Resultados y discusión. El ADI indicó que en el control el ANP equivale al 16% del área celular total. La figura 1 muestra el efecto de TX100 sobre la liberación de betalaínas (aumento en %ANP). Los resultados indicaron que *Bv* libera betalaínas como resultado del tratamiento con TX100 (0.23 mM) por 0.25 y 3 h.

El contacto con 0.009-0.7 mM de TX100 durante 0.25 h no tuvo un efecto negativo sobre la viabilidad, manteniéndose en valores mayores a 70%. En contraste, con 0.9 mM la viabilidad disminuyó hasta el 25%. Un tratamiento más prolongado (3 h) provocó una disminución en la viabilidad a partir de 0.5 mM; con 0.9 mM se presentó la muerte del cultivo.

La caracterización morfométrica indicó que el área celular promedio de los AC de *Bv* sin permeabilizar fue 0.070-0.074 mm². Como resultado del tratamiento con 0.7 y 0.9 mM (0.25 h) el área disminuyó en 50%. En contraste, con un tiempo de contacto de 3 h, el área celular disminuyó de forma gradual en el intervalo 0.009-0.9 mM. El cambio en el tamaño de las células pudiera ser explicado debido a la

liberación de betalaínas. El FFE de los AC fue 1.5 y no varió en ninguna de las condiciones evaluadas.

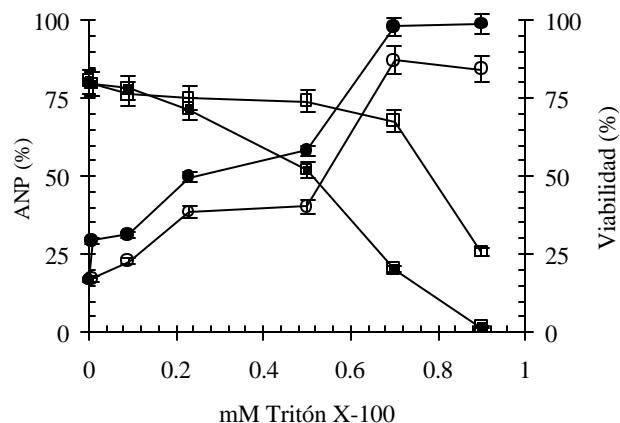


Fig. 1. Efecto del tratamiento por 0.25 (símbolos vacíos) y 3 h (símbolos llenos) en la liberación de betalaínas (círculos) y la viabilidad (cuadros)

Este es el primer reporte del uso del ADI para evaluar el efecto de agentes permeabilizantes sobre la liberación de metabolitos, viabilidad y morfología de cultivos de *B. vulgaris*. Sería interesante relacionar los resultados de este trabajo con lo que se obtiene por otras técnicas como la espectrofotometría y el recrecimiento celular.

Conclusiones. El tratamiento con 0.7 mM de Tritón X-100® durante 0.25 h promueve una liberación del 70 % de las betalaínas acumuladas por suspensiones de *B. vulgaris*. sin afectar de forma negativa la viabilidad.

Agradecimientos. El trabajo fue financiado por CGPI-IPN (proyectos 20010741 y 20030340) y CONACYT (39562).

Referencias.

- Rodríguez, M, Trejo-Espino, J. L, Miranda, L, Trejo-Tapia, G y Jiménez A. (2002). Análisis de imágenes en el cultivo de tejidos vegetales. *CONVERSUS*. 14:16-19.
- Salcedo, G, Jiménez, A, Trejo, G y Galindo, E. (2002). Efecto de Tritón X-100® sobre la liberación de betalaínas en cultivos en suspensión de betabel (*Beta vulgaris* L.). En *Memoria de Investigación 2002*. CEPROBI-IPN. Arzuffi R. & Barona E. (eds.). CEPROBI-IPN. México. ISBN 970-36-0000-X. pp:50-57.
- Trejo-Tapia G, Jiménez-Aparicio A, Villarreal, M y Rodríguez-Monroy, M (2001). Broth rheology and morphological analysis of *Solanum chrysotrichum* cultures developed in a stirred tank. *Biotechnol. Lett.* 23: 1943-1946.
- Miranda, L. (2003). Análisis de imágenes para la medición de viabilidad y morfología de cultivos de *Beta vulgaris* y *Cinchona robusta*. Tesis de Maestría. CEPROBI-IPN. México.