

CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSIÓN DE *Uncaria tomentosa* EN MATRACES Y TANQUE AGITADO

Gabriela Trejo-Tapia^{1,2}, Mario Rodríguez-Monroy² y Ana Carmela Ramos-Valdivia¹.

¹ Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN. ² Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. San Pedro Zacatenco. México, D. F. 07360. Fax (735) 39 4 18 96 gttapia@ipn.mx

Palabras clave: Uncaria tomentosa, morfología, biorreactor

Introducción. *Uncaria tomentosa* (Rubiácea; uña de gato), acumula alcaloides indólicos y oxindólicos, los cuales presentan actividad antileucémica, inmunestimulante y anticancerígena (1). Lo anterior, ha despertado gran interés en esta planta; sin embargo, para la extracción de estos compuestos se requiere de su tala con la consecuente pérdida de la biodiversidad. Una alternativa a la extracción directa de la planta es el cultivo de células vegetales en biorreactores (2). En este contexto, la morfología de las células vegetales puede influir en las propiedades de mezclado y transferencia de masa y pudiera ser determinante en la productividad del sistema (3). No existen antecedentes del cultivo de *U. tomentosa* en tanque agitado.

Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue cultivar suspensiones de *U. tomentosa* en tanque agitado y comparar el crecimiento y morfología de las células con lo observado en matraces.

Metodología. La línea celular de *U. tomentosa* UtH-3v fue obtenida por Luna (4). Se utilizó un tanque agitado (TA) de 2 litros con un impulsor Rushton de 4 paletas. Las condiciones de cultivo fueron 0.1 vvm y 400 rpm. El pH se controló en 5.0. Los matraces (MT) de 125 ml con 25 ml de medio de cultivo MSUtH-3v (4) se agitaron a 100 rpm. La morfología fue determinada por análisis de imágenes (ADI), según el método propuesto por Trejo y col. (3). Se analizaron los agregados celulares (AC) y células individuales (CI). Se determinó el área y factor de forma elíptica (FFE). FFE = 1 corresponde a un objeto redondo.

Resultados y discusión. En el cuadro 1 se presentan los resultados de crecimiento celular. Los cultivos en MT presentaron una velocidad específica de crecimiento dos veces mayor a la observada en TA, además de que su crecimiento fue 1.28 veces superior al TA.

Cuadro 1. Biomasa máxima y velocidad de crecimiento de UtH-3v cultivada en MT y TA

	Día	Biomasa máxima (g/l)	μ (días ⁻¹)
MT	10	14.54 \pm 1.00	0.214
TA	14	11.44 \pm 0.05	0.093

La figura 1 presenta imágenes representativas de UtH-3v en las que se observa el cambio en tamaño y forma que los AC sufren cuando son cultivados en TA en comparación a MT. El ADI indicó que al inicio del experimento, el %AC fue 93. Esta característica se mantuvo constante durante el cultivo en MT. Sin embargo, en TA, se observó que %AC

disminuyó a 74 después de 12 días. El área promedio de los AC en MT varió significativamente ($p < 0.05$) de 0.022 a 0.036 mm². En contraste, en TA el área se mantuvo entre 0.028-0.031 mm². El FFE de los AC en MT fue 1.5 y no varió. En cambio, en TA se incrementó ($p < 0.05$) de 1.5 a 2. Por otro lado, el área promedio de las CI de UtH-3v cultivadas en MT fue 0.003-0.005 mm². Por el contrario, después de 12 días en TA el área fue 3-4 veces mayor (0.012 mm²) a la observada en MT. De manera similar, a lo observado para AC, el FFE de las CI se mantuvo constante en MT (1.5), mientras que en TA las CI presentaron en promedio FFE de 2.

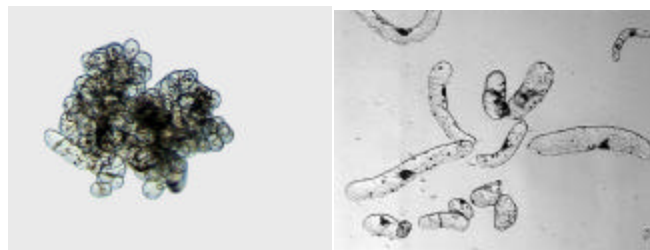


Fig. 1. AC de UtH-3v desarrollados en matraz (izq) y biorreactor (der).

Este es el primer reporte del cultivo de *U. tomentosa* en TA, es importante profundizar en las causas que provocan el cambio en la morfología en TA y su relación con la producción de alcaloides indol terpenicos.

Conclusiones. El crecimiento de *U. tomentosa* en TA es menor que en MT. Existen diferencias morfológicas en los AC y CI cultivadas en matraces y biorreactor.

Agradecimiento. El trabajo fue financiado por CONACyT (proyecto 31429-B) y CGPI-IPN (Proyecto 20010741). G. Trejo-Tapia agradece la Beca Crédito CONACYT para estudios de Doctorado.

Bibliografía.

1. Laus, G, Brössner, D y Keplinger, K. (1997). Alkaloids of peruvian *Uncaria tomentosa*. *Phytochem.* 45 (4):855-860.
2. Rodríguez M, Jiménez, A, Sepúlveda, G, Trejo-Tapia, G, Salcedo, G, Martínez, B y De Jesús, A. (1999). Cultivo genético de colorantes naturales de interés industrial. *Investigación Hoy.* 89:10-17.
3. Trejo-Tapia G, Jiménez-Aparicio A, Villarreal M, Rodríguez-Monroy M (2001). Broth rheology and morphological analysis of *Solanum chrysotrichum* cultures developed in a stirred tank. *Biotechnol. Lett.* 23: 1943-1946..
4. Luna, G. (2002). Producción de alcaloides indol-terpenicos por cultivo de células de *Uncaria tomentosa*. Tesis de Maestría. CINVESTAV-IPN. México, D.F.

