



EFFECTO DE MODIFICACIONES ESTRUCTURALES EN UN BIORREACTOR AIRLIFT SOBRE EL CRECIMIENTO DE CULTIVOS DE RAÍCES TRANSFORMADAS DE BROCOLI

García-López, Edgar¹; Ramos-Ramírez Emma Gloria¹; Montes-Horcasitas María del Carmen¹; Gómez-Guzmán, Octavio¹; Josefina Pérez-Vargas² Calva-Calva, Graciano¹.

egarcial@cinvestav.mx, gcalva@cinvestav.mx

¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Av. IPN 2508. México, D.F., México 07360. Apartado postal 14-740, 07000. ²Ingeniería Bioquímica. Av. Tecnológico S/N Col. Valle de Anáhuac, Ecatepec de Morelos, Estado de México, C.P. 55210

Palabras clave: Hairy roots, biorreactor, Brócoli

Introducción. Con el potencial de los cultivos de raíces transformadas (*hairy roots*) para expresar proteínas heterólogas con actividad terapéutica, el estudio de su comportamiento durante el crecimiento en biorreactor es amplio y creciente (1). Uno de los aspectos más importantes en el desarrollo de estos cultivos es la configuración del biorreactor. El objetivo de este trabajo fue estudiar la acumulación de biomasa y de proteína por cultivos de raíces de brócoli BRGHE18 en un biorreactor *airlift* modificado (Fig 1).

Metodología. Se utilizó un biorreactor *airlift* (1.3 L vol. de operación) para evaluar la acumulación de biomasa, proteína y consumo de sacarosa por cultivos de raíces transformadas de brócoli. Las modificaciones realizadas fueron por la incorporación de una malla de acero inoxidable (1 cm de apertura) y de un tubo concéntrico de arrastre. Transcurrido el período de cultivo (20 días, iluminación constante de 8400 lux a 24°C y 0.15 vvm) se cosechó la biomasa y se le determinó la proteína total soluble (PTS) por el método de Bradford. El consumo de sacarosa se determinó por DNS (Miller 1959).

Resultados. De las cuatro configuraciones probadas (el reactor sin modificaciones, con la malla de acero inoxidable, con tubo concéntrico y el reactor con tubo concéntrico y malla), en los tratamientos en el biorreactor sin modificaciones y modificado sólo con el tubo concéntrico, se observó que la biomasa no se distribuía uniformemente manteniéndose en la superficie del medio de cultivo (Fig. 1A). Además, la presencia del tubo concéntrico generó oxidación severa del tejido y no formó agregados de raíces que normalmente favorecen el crecimiento y propagación del tejido en estos cultivos.

En los tratamientos con sólo la malla de acero se mejoró substancialmente la distribución de la biomasa (Fig. 1B), la cual se ancló en diversas zonas y formó nodos o agregados en toda la malla y no sólo en la superficie del medio de cultivo. No obstante, en los tratamientos con la malla de acero y tubo concéntrico, después de un período de 20 días, la biomasa se distribuyó prácticamente en la totalidad de la malla, probablemente debido a un mejor mezclado que permitió al tejido anclarse en más sitios de la malla (Fig. 1C).

Evidentemente, la acumulación de biomasa, de proteína total soluble y el consumo de sacarosa fueron mayores en los cultivos con este último tratamiento (Tabla 1).

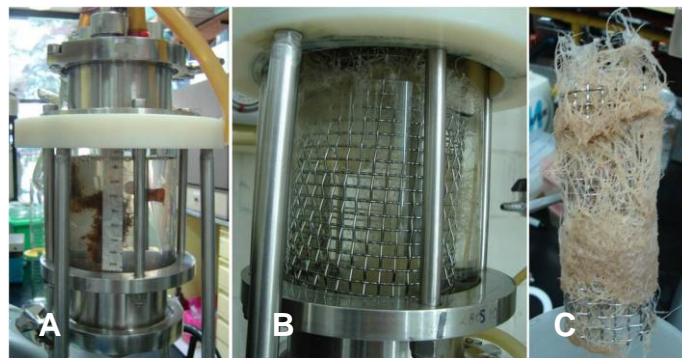


Figura 1. A) Raíces poco distribuidas en el reactor, durante las corridas sin malla de acero, B) Raíces creciendo en el reactor con malla y tubo de arrastre, C) Colonización de la malla por la raíz transformada.

Tabla 1. Efecto de la modificación estructural del biorreactor sobre la acumulación de biomasa, proteína total soluble y consumo de sacarosa

	Reactor sin modificaciones	Reactor con tubo concéntrico	Reactor con malla metálica	Reactor con tubo y malla
Volumen de operación	1.3 l	1.3 l	1.3 l	1.3 l
Acumulación de Biomasa g/l	18.6	12.2	32.4	45.88
Acumulación de PTS mg/g _b	1.95±0.27	2.61±0.21	2.85±0.3	3.69±0.33
Consumo de sacarosa %	37±2.5	45±2.2	63±3.4	80±1.3

Conclusiones. La incorporación de una malla y tubo concéntrico al biorreactor incrementaron aproximadamente 2.5 veces la acumulación de biomasa y 2 veces la acumulación de proteína total soluble mostrando una distribución uniforme de la biomasa al permitir el anclaje del tejido en prácticamente toda la malla.

Agradecimiento. A CONACyT por la beca otorgada al primer autor (beca 207131) y al Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV - IPN.

Bibliografía.

- Guillon S., Trémouillaux-Guiller J., Pati P., Rideau M., Gantet P. 2006. Harnessing the potential of hairy roots: dawn of a new era. Trends in Biotechnology. 24: 403-409.
- Miller G. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428.