

CRECIMIENTO DE RAICES TRANSFORMADAS DE *Stevia rebaudiana* EN BIORREACTOR DE TANQUE AGITADO

Edgar García López^{1,2*}, Eduardo Anaya Esteban¹, Ariana Arlene Huerta Heredia^{1,2}, ¹Universidad del Papaloapan (División de Estudios de Posgrado), ²IxM CONACYT-UNPA. Tuxtepec, Oaxaca. México. CP. 68301. * egarcia@unpa.edu.mx

Palabras clave: Stevia rebaudiana, transformación genética, bioproceso.

Introducción. *Stevia rebaudiana* es una planta que ha sido objeto de estudio debido a su capacidad de acumular glucósidos de esteviol (GE). En la Universidad del Papaloapan, se establecieron cultivos de raíces transformadas de *S. rebaudiana* mediante el uso de *Agrobacterium rhizogenes*. Se documentó que estos cultivos transformados acumularon más GE que los cultivos no transformados cultivados en matraz. Por lo tanto, el objetivo en este trabajo fue evaluar el efecto del crecimiento en biorreactor de tanque agitado modificado, con densidad de inóculo 1% p/v y velocidad de aireación de 1 vvm, sobre la biomasa (BM) de un cultivo de raíces transformadas y el pH del medio de cultivo.

Metodología. El biorreactor fue llenado hasta el volumen de operación (2.5 L) con medio MS (Murashige & Skoog 1962) a la mitad de sales, pH 5.8 y preparado con una canastilla de acero inoxidable, de diseño propio, antes de ser esterilizado en autoclave en condiciones estándares, 15 min a 121°C de temperatura y 120 libras de presión. Para comenzar las cinéticas se utilizaron segmentos meristemáticos de raíces transformadas para inocular el biorreactor con 1% p/v de biomasa fresca y el biorreactor se mantuvo a 25±2°C con fotoperiodo 16h luz/8 h oscuridad, agitación mecánica de 200 rpm y aeración de 1 vvm de aire esterilizado. Las cinéticas se siguieron por 20 días con muestreo al final del experimento. Se registró el peso fresco de la totalidad de la biomasa final e inicial, el consumo de sacarosa (Dubois et al. 1956) y el pH final del medio de cultivo.

Resultados. Después del periodo de crecimiento, se observó elongación de los meristemos y ramificación general del tejido sobre la superficie de la canastilla interna (Fig. 1A), además se mantuvo la capacidad fotosintética evidenciada por la coloración verde (Fig. 1B). Estas características de crecimiento coinciden con las reportadas para raíces transformadas de *Stevia* (Calderón et al. 2018). La biomasa final fue de 57.7 ± 3.6 g de peso fresco, la biomasa inicial de 24.2 g ± 1.2 g y el índice de crecimiento (IC) fue de 3.36 ± 0.28. El pH cayó 5.8 ± 0.1 a 3.7 ± 0.1, debido a la producción de ácidos orgánicos del consumo a partir de la fuente de

carbono. El IC de este cultivo fue 9.6 veces superior a lo reportado por Ramírez et al. (2019) usando raíces transformadas de *S. rebaudiana* en biorreactores *airlift* con el mismo porcentaje de inóculo. El consumo de sacarosa (6.5 g/L residual) fue superior al observado por Ramírez con 12.09 g/L de sacarosa residual.

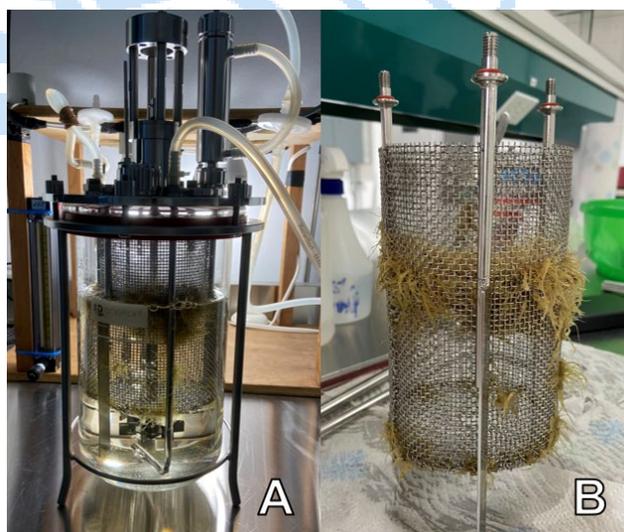


Fig. 1. A) Raíces transformadas en el biorreactor tras 15 días de crecimiento. B) Biomasa cosechada tras 20 días de crecimiento.

Conclusiones. Las condiciones de crecimiento en biorreactor de tanque agitado mejoran la acumulación de biomasa y consumo de fuente de carbono de un cultivo de raíces transformadas de *S. rebaudiana*.

Agradecimiento. Proyecto 3212 Cátedra-CONACyT (N° 183958).

Bibliografía.

- Calderón G., L., Jiménez B., A., Huerta H., A. A., Capataz T., J., & García L., E. (2016). Mexican Journal of Biotechnology, 1(1), 34-41.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. T., & Smith, F. (1956). Analytical chemistry, 28, 350-356.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). Physiologia plantarum, 15(3), 473-497.
- Ramírez, M. ER. (2019). Evaluación del crecimiento de raíces transformadas de *Stevia rebaudiana* en biorreactor *airlift* y su efecto en la acumulación de metabolitos secundarios. Maestría en biotecnología. Universidad del Papaloapan.