XVIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería
León, Guanajuato 23 al 28 de junio 2019
Resumen de Trabajos Libres

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE *Aspergillus brasiliensis* EN CULTIVOS LÍQUIDO Y SÓLIDO

Daniel A. Salgado-Bautista, Tania Volke-Sepúlveda, Francisco Figueroa-Martínez y Ernesto Favela-Torres.
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, C. P. 09340, Ciudad de México, México. Fax (55) 58 04 65 54, e-mail: em.daniel.alf@gmail.com

Glucosa, Aspergillus brasiliensis, ramificación.

Introducción. Los hongos filamentosos del género *Aspergillus* son utilizados en la producción de enzimas y ácidos orgánicos. Estos procesos son generalmente realizados en cultivo líquido (CL); no obstante, la secreción de proteína es mayor en cultivo sólido (CS) (1). La cantidad de proteína secretada se asocia con el nivel de ramificación de las hifas (2), y a su vez, éste aumenta al elevar la concentración de nutrientes del medio (3), por lo que, la morfología dependerá de las condiciones del cultivo (4) y debe considerarse en el diseño de procesos (5). Generalmente, los estudios morfométricos se realizan en cultivos líquido y en cultivo superficial, sin reportes en cultivo sólido. Por lo anterior, en este trabajo se determinó el grado de ramificación de hifas de *Aspergillus brasiliensis* en CL y CS con diferente concentración de glucosa.

Metodología. Se utilizó la cepa de *Aspergillus brasiliensis* ATCC9642. El CL se realizó en matraces Erlenmeyer de 250 mL con 50 mL de medio mínimo (MM) Hill y Kafer con concentraciones de glucosa de 20 a 60 g/L. Los matraces se incubaron a 30ºC y 200 rpm, con aireación a 20 mL/min. El CS se realizó a nivel microcultivo; para ello, sobre un portaobjetos se colocó una fracción de medio sólido inoculado. El medio sólido se preparó con agrolita como soporte inerte humedecido con MM a razón de 1.84mL/g de agrolita seca. La concentración de glucosa fue de 60 a 180 g/L y los portaobjetos se incubaron a 30ºC en Cajas de Petri con atmósfera saturada de humedad. El análisis morfométrico de los cultivos se realizó a un tiempo equivalente en el que alcanzan su máxima tasa de producción de CO_2 (53, 56 y 62 h en CL y 38.5, 48 y 57 h en CS). Las imágenes obtenidas con un microscopio (Olympus Corp. BX 50) y el software Pro-plus, se analizaron con ImageJ (NIH, Bethesda MD). El nivel de ramificación se determinó con hifas terminales mayores a 400µm y se expresa como el número de puntas por cada 100µm de hifa.

Resultados. En CL, el nivel de ramificación disminuye ligeramente (27%) al aumentar la concentración de glucosa de 20 a 60 g/L (Tabla 1). En contraste, en CS aumenta (62%) al incrementar la concentración de glucosa de 60 a 180 g/L. La ramificación de las hifas de *A. brasiliensis* (Tabla 1) incrementó en función de la concentración de glucosa en CS, en contraste con el CL, en donde no hay diferencias significativas. Demostrando que el incremento de glucosa induce patrones diferentes de ramificación de las hifas (Fig. 1) y que no sólo depende de la concentración del medio, sino también de las condiciones que presenta cada tipo de cultivo.

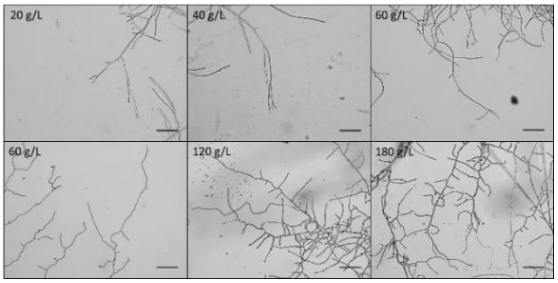

Fig. 1. Ramificación de *A. brasiliensis* por el incremento de la glucosa en el MM. Imágenes superiores= CL e inferiores=CS. Barra=100µm

Tabla 1. Valores morfométricos promedio de las hifas de *A. brasiliensis*.

Cultivo	Glucosa (g/L)	n	Puntas/100um*	DE
Líquido	20	54	1.11^{a}	0.47
	40	53	0.99^{b}	0.45
	60	52	0.81^{b}	0.27
Sólido	60	64	0.79^{A}	0.27
	120	46	1.02^{B}	0.23
	180	44	1.28^{C}	0.39

*Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA de un factor y Test de Duncan (α=0.05).

Conclusiones. La concentración de glucosa aumenta la ramificación de las hifas de *A. brasiliensis* en CS, mientras que en CL no induce diferencias significativas. Demostrando que la ramificación no sólo depende de la concentración de nutrientes en el medio, sino también del tipo de cultivo y del hongo, ya que los reportes indicaban un incremento de ramificación en CL al elevar la concentración de nutrientes.

Agradecimientos. A CONACyT por el proyecto 254975 y DASB agradece por la beca de posgrado 427223

Bibliografía.

1. Viniegra-González G *et al*. (2003) Biochem Eng J 13:157–167
2. Gomes *et al.* (2018) Fungal Growth on Solid Substrates: A Physiological Overview. En: Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Current Advances in Solid-State Fermentation, Vol 1. Pandey A, Larroche C and Soccol R (eds), Elsevier, pp 31-56
3. Müller C *et al.* (2002) Appl Environ Microbiol 68(4): 1827–1836.
4. Papagianni M, Nokes SE and Filer K (2001) Food Technol Biotechnol 39(4):319–326
5. Wucherpfennig T, Hestler T and Krull R (2011) Microb Cell Fact 10:58