

EFECTO DEL TIPO DE AGITACIÓN EN LA SÍNTESIS DE XILANASAS DE *Aspergillus flavipes* FP-500 EN SUSTRATOS COMPLEJOS

Lizzete Ruth Torres Barajas y Guillermo Aguilar Osorio. Facultad de Química, Conjunto E, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito de la Investigación Científica. Ciudad Universitaria, C.P. 04510. México, D.F., Tel. 56225306, Fax: 56225309. E-mail: gao@servidor.unam.mx

Palabras clave: *Aspergillus flavipes* FP-500, xilanasas y sustratos complejos.

Introducción. Las xilanasas son enzimas de la familia de las glucosidasas que hidrolizan los enlaces β -1,4 de las cadenas de xilano, el polisacárido más abundante en la hemicelulosa presente en la pared celular vegetal¹. La síntesis de enzimas xilanolíticas se ve influenciada por el tipo de fuente de carbono, su disponibilidad y complejidad, especialmente cuando se utilizan desechos agroindustriales como el olote de maíz². Con este tipo de sustratos la oxigenación del medio cobra un papel relevante. En el presente trabajo, se pretende mostrar la influencia que tiene el tipo de agitación en los perfiles de actividad xilanolítica producidos por *Aspergillus flavipes* FP-500 cuando utiliza olote de maíz como fuente de carbono compleja.

Metodología. *Aspergillus flavipes* FP-500 fue cultivado en matraces de 500 mL, con 100 mL de medio basal (K_2HPO_4 , KH_2PO_4 al 0.2% y $(NH_4)_2SO_4$ al 0.5%) y olote de maíz como fuente de carbono. El inóculo fue de 10^6 esp/mL. Se utilizaron dos tipos de agitación: orbital a 200 rpm, y reciprocante a 200 golpes/min. Al término de 72 horas se recuperó el caldo de cultivo y se concentró por ultrafiltración. El SDS-PAGE fue teñido con azul de Coomassie y los zimogramas fueron tratados con buffer de renaturalización e incubados con una solución de xilano de abedul después de la separación y antes de ser teñidos con rojo congo. Ambos geles se obtuvieron en condiciones desnaturalizantes.

Resultados y discusión. Las actividades volumétricas obtenidas en ambas condiciones de agitación resultaron similares, 440 y 420 U/mL para la agitación orbital y reciprocante respectivamente. Así mismo, los patrones electroforéticos de proteína extracelular obtenidos a partir del cultivo de *Aspergillus flavipes* FP-500 en las dos condiciones, no parecen muy diferentes (Fig. 1A). Sin embargo, la presencia de proteínas de bajo peso molecular en los carriles correspondientes al cultivo con agitación orbital y que no están presentes en los correspondientes a la agitación reciprocante, dan evidencia de que la secreción de proteínas en ambas condiciones es distinta. Cuando se analizó el zimograma obtenido, encontramos que algunas de las bandas que producen zonas de hidrólisis que corresponden a enzimas con actividad xilanolítica en el cultivo con agitación orbital no se observan en el cultivo correspondiente a la agitación reciprocante, (Fig. 1B).

Esto puede indicar que la estrategia aplicada por el hongo para utilizar la fuente de carbono es distinta de acuerdo con la disponibilidad de esta, y que se modifica en función del tipo de agitación. Así mismo, hay un grupo de proteínas y de xilanasas que parecen ser muy importantes, ya que no dependen de las condiciones de agitación utilizadas durante el cultivo.

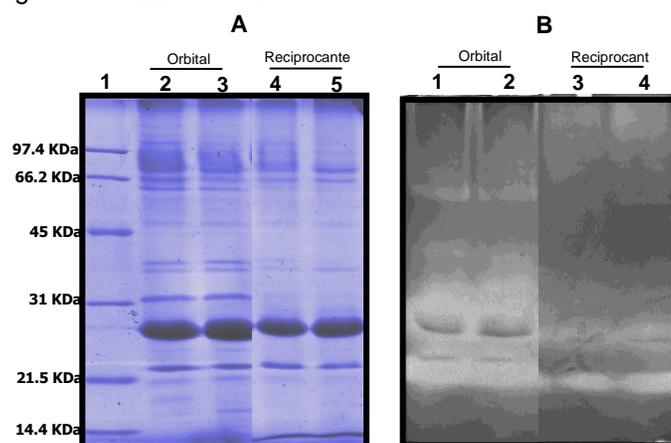


Fig. 1. SDS-PAGE y zimograma. Proteína extracelular de *A. flavipes* FP-500 crecido en olote de maíz. Panel A: Marcadores de P.M. (1); agitación orbital (2 y 3) y agitación reciprocante (4 y 5). Panel B: Zimograma de actividad xilanolítica. Agitación orbital (1 y 2), agitación reciprocante (3 y 4). Teñidos con azul de Coomassie y rojo congo en condiciones ácidas.

Conclusiones. El tipo de agitación, no afectó el nivel de producción medido por la actividad volumétrica total. Sin embargo, si modifica el balance de enzimas xilanolíticas producidas, como se aprecia en el análisis zimográfico.

Agradecimientos. Este trabajo fue realizado con el apoyo de DGAPA, UNAM, Proyecto IN209007. LRTB agradece el apoyo de CONACyT.

Bibliografía.

- de Vries, R.P. and Visser, J. *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. (2001). *MMBR*. 65: 497-522.
- Camacho, N.A., Aguilar, G. (2003). Production, Purification and Characterization of a low molecular mass xylanase from *Aspergillus* sp. and its application in baking. *Appl. Biochem. Biotech.* 111(1), 15-28.