



DEFINICIÓN DE ESTADOS FISIOLÓGICOS DE UNA CEPA DE *Aspergillus niger* CULTIVADO EN MEDIO SÓLIDO EMPLEANDO RESPIROMETRÍA

Silvia G. Nava del Villar¹, Ernesto Favela-Torres¹, Jesús Córdova-López², Gerardo A. Corzo-Burguete³. ¹UAM-Unidad Iztapalapa, Distrito Federal 09340, ²Universidad de Guadalajara-CUCEI, Guadalajara, Jalisco 44430, ³Departamento de Biotecnología-UNAM, Cuernavaca, Morelos 62210. sgndelvillar@yahoo.com.mx

Palabras clave: Aspergillus niger, respirometría, cultivo en medio sólido

Introducción. La respirometría consiste en la medición e interpretación del consumo biológico de O₂ y la producción de CO₂ de una población microbiana bajo condiciones de cultivo definidas¹. De la cual se pueden obtener algunos parámetros que puedan servir como indicadores del comportamiento metabólico del cultivo. Dependiendo de los fines que se persigan, el conocer indicadores del metabolismo puede servir para seguir el consumo de un determinado sustrato, la producción de algún metabolito² o como es el propósito de este trabajo, emplear la respirometría como una herramienta para definir estados fisiológicos, lo cual es de interés para estudios posteriores. Por otro lado, la expresión de proteínas es un reflejo directo este estado, por lo que un análisis elemental puede mostrar diferencias o similitudes entre diversas muestras, razón por la cual se emplea un análisis en SDS-PAGE.

Metodología. Se utilizó la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 9642. Para el cultivo en medio sólido se emplearon matraces Erlenmeyer de 250 mL con 6 g de agrolita impregnados con 11 mL de medio de cultivo esteril³ con 2 diferentes concentraciones de sacarosa (150 y 300 g/L) como fuente de carbono, inoculado con 1x10⁷ esporas/mL de medio. Y se incubó a 30°C, el cultivo se monitoreó empleando un metabolímetro hasta obtener la tasa máxima de producción de CO₂. Para obtener la proteína extracelular se añadió a cada matraz 60 ml de agua con inhibidor de proteína y se agitó a 200 rpm, 30 min a 4°C. Después el extracto fue filtrado con papel Whatman No. 40. Posteriormente se centrifugó dos veces a 7000 rpm durante 20 min a 4°C. El extracto limpio se concentró por ultrafiltración, se diafiltró, se midió proteína⁴ y se liofilizó. La electroforesis SDS-PAGE se realizó con geles al 12% de acrilamida con un voltaje constante de 120V, por cada carril se cargaron 30 µg de muestra.

Resultados. El uso de la tasa máxima de producción de CO₂ (Tabla 1) como criterio para la toma de muestra, mostró patrones similares de bandas de proteínas en geles SDS-PAGE (Fig.1) para ambas concentraciones de sacarosa inicial en diferentes unidades experimentales.

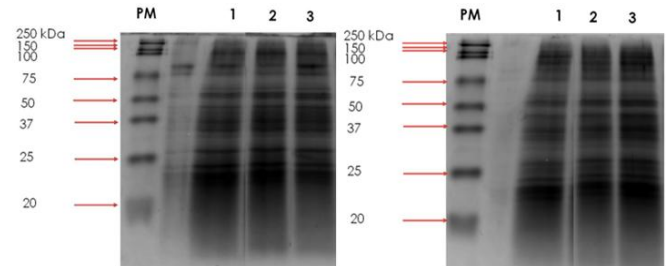


Fig. 1 Geles SDS-PAGE al 12 % de tres diferentes unidades experimentales obtenidas con 150 (izq.) y 300 (der.) g/L de sacarosa inicial.

Tabla 1. Parámetros cinéticos obtenidos por respirometría de CMS empleando diferentes concentraciones de sacarosa

Sacarosa inicial (g/L)	UE	Tasa máxima de producción de CO ₂ (ml CO ₂ /min)	Producción total de CO ₂ (mg CO ₂ /g SI)	Tasa específica de producción de CO ₂ (1/h)
150	1	1.132	14.986	0.248
	2	1.007	13.235	0.26
	3	1.093	14.508	0.245
300	1	2.122	28.528	0.185
	2	1.907	25.747	0.193
	3	2.099	27.675	0.187

Conclusiones. El empleo de la respirometría, y de la máxima tasa de producción de CO₂ como criterio para realizar el muestreo en un cultivo sólido es adecuado para obtener estados fisiológicos definidos. Tal afirmación se apoya al observar patrones de bandas de proteínas similares, obtenidas de diferentes muestras tomadas bajo este criterio.

Agradecimiento. A CONACyT por la beca otorgada 300609.

Bibliografía.

- Spanjers H, Takacs I, Brouwer H. (1999) *Wat Sci Tech* 39 4: 137-145
- Soto NO. (1993) Informe final de servicio social. Universidad Autónoma Metropolitana. p. 4-5.
- Hill T., Kafer E. (2001). *Fungal Genet. Newsl.*, 48:20-21
- Bradford, M.M. (1976) *Anal. Biochem.* 72: 248-254