

OBTENCIÓN DE MUTANTES DE *Aspergillus niger* AT SOBREPDUCTORES DE FITASA EN FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO

Octavio Herrera García, Octavio Loera, Gustavo Viniegra González, Ernesto Favela Torres
Planta piloto de fermentación sólida, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAMI)
San Rafael Atlixco 186. Col. Vicentina, 09340 México D.F., favela @xanum.uam.mx

Palabras clave: *fitasa, cepas mutantes, bioensayo, potencia de hidrólisis*

Introducción. El ácido fítico es el primer reservorio de fósforo orgánico de cereales y leguminosas^{1,2}, aproximadamente el 75% del fósforo se encuentra en forma de ácido fítico. El ácido fítico tiene propiedades anti-nutricionales al formar complejos con las proteínas y cationes monovalentes y divalentes. La alimentación de animales monogástricos con fitasa microbiana modifica los complejos con el fitato e incrementa la biodisponibilidad del fósforo^{4,5}, calcio y proteínas⁶. Para resolver ese problema se utiliza la enzima fitasa como aditivo alimentario. En este trabajo se presenta un método para obtener mutantes de *Aspergillus niger* con mayor producción de fitasa que la cepa progenitora.

Metodología. Se utilizó la cepa de *Aspergillus niger* AT, la cual fue sometida a mutagénesis. Para ello, se irradiaron 10mL de suspensión de esporas (10^7 esp/mL) con una dosis de radiación UV 254nm, equivalente al 50% de sobrevivencia. Se inocularon 200?L de suspensión de esporas en un medio con fitato de sodio como única fuente fósforo y glucosa como fuente de carbono (medio PSM), adicionado con 60?g/mL de higromicina B (HB), las colonias que lograron crecer se reinocularon en un medio con fitato de calcio³. Las colonias con mayor potencia de hidrólisis (área de hidrólisis/área de colonia) fueron utilizadas para evaluar la producción de fitasa en medios de cultivo con salvado de trigo y harina de soya a una humedad inicial de 50%. La actividad enzimática se expresa como la relación de actividades entre las cepas mutantes y la cepa progenitora (UI/UI_p).

Resultados. Se obtuvieron 14 mutantes, lo que representa una frecuencia de mutación de 1.4×10^{-7} esporas inoculadas. En la Figura 1 se presentan los bioensayos realizados con cepas mutadas (M14 y M13) y no mutadas (N8 y N10) a las 72 h de incubación.

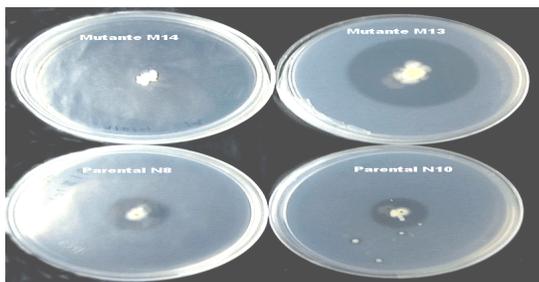


Fig.1 Bioensayo de potencia de hidrólisis de fitato en cepas mutadas y no mutadas

Los 14 mutantes obtenidos, así como la cepa progenitora fueron utilizados para evaluar su producción de fitasa en fermentación en medio sólido. La Figura 2 presenta los

resultados de actividad enzimática relativa ($R=UI/UI_p$) en función de la potencia de hidrólisis de las cepas estudiadas. La cepa progenitora presentó una potencia de hidrólisis de 4 y una $R = 1$. La mutante con mayor actividad enzimática (M14) tuvo una potencia de hidrólisis de 57.3 y una $R = 2.14 UI/UI_p$. Los datos obtenidos fueron ajustados con la relación de $R = 664*P/(5.35+P)$, donde P es la potencia de hidrólisis y R es la actividad enzimática relativa.

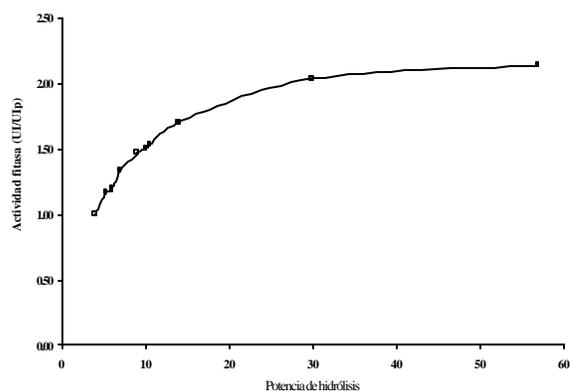


Fig. 2 Correlación entre la producción de fitasa en medio sólido y la potencia de hidrólisis.

Conclusiones. Con este protocolo se pueden obtener mutantes que incrementan la producción de fitasa hasta 200%. Los medios de selección PSM con HB y por halos de hidrólisis proporcionan un método eficiente y rápido para la selección de mutantes sobreproductores de fitasa.

Agradecimientos. Alltech de México S.A. de C.V. y CONACyT.

Bibliografía.

1. Boland, AR de, Garner, GB and O'dell, BC. (1975). Identification and properties of phytate in cereal grains and oilseed products. *J. Agric. Food Chem.* **23**:1186-1189.
- 2.-Erdmar, JW. (1997). Oilseed phytates nutritional implications. *J AmOil Chem Soc.* **56**:736-741.
- 3.-Howson, SJ and Davis, RP. (1983). Production of phytate hydrolysing enzyme by some fungi. *Enzyme Microb Technol.* **5**:377-383.
- 4.-Nelson, TS, McGillivray, JJ, Shier, TR, Wodzinski, RJ and Ware JH. (1968b). Effect of phytate on the calcium requirement of chicks. *Poult SC.* **47**:1985-1989.
- 5.-Nelson, TS, Shieh TR and Wodzinski, RJ. (1971). Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. *J Nutr.* **101**:1289-1294.
- 6.-Rojas, SW and Scott, ML. (1968). Factors affecting the nutritive value of cottonseed meal as a protein source in chick diets. *Poult SC.* **48**:819-835.