

ANÁLISIS DE ISOENZIMAS EN CEPAS DE *Aspergillus* PARA LA IDENTIFICACIÓN DE HÍBRIDOS RECOMBINANTES.

Ana Segura, Jorge Tello, Carlos Huitrón, Sara Solís

División de Estudios de Posgrado e Investigación. Instituto Tecnológico de Mérida. Av. Tecnológico S/N, A.P. 9-11. C.P. 97118. Instituto de investigaciones Biomédicas. UNAM.
email:ssolis@labna.itmerida.mx

Palabras clave: *isoenzimas, híbridos, Aspergillus*

Introducción. La identificación de las fracciones isoenzimáticas en geles de poliacrilamida ha permitido determinar la expresión fenotípica de loci enzimáticos característicos de un organismo que son indicadores de patrones de un género o especie¹. Asimismo, el establecimiento de un perfil de isoenzimas de un microorganismo puede servir de referencia para determinar la variación evolutiva de genes. En estudios previos se llevó a cabo la inducción de la haploidización de híbridos interespecie de cepas *Aspergillus* que pueden dar lugar a la obtención de diploides o haploides recombinantes². Una manera de identificarlos es mediante el análisis isoenzimático.

El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones para obtener los perfiles de isoenzimas de las cepas en estudio para identificar los híbridos recombinantes y establecer la diferencias con respecto a las cepas parentales.

Metodología. Las cepas parentales fueron *Aspergillus sp* CH-Y-1043, *A. flavipes* ATCC-16795 y los híbridos HV, HB, HL, H15, HP y HZ. Las enzimas fueron extraídas evaluando el sistema I que contenía buffer Tris.base 0.1M, NADP 33mg/L y EDTA 0.012M y el II que contenía Tris base 0.05M, polietilenglicol 3350 al 1%, ácido cítrico 0.007M, ácido ascórbico 0.1% y cisteína 0.1%. Las muestras fueron liofilizadas y corridas en un gel de poliacrilamida al 7.5%, 150 V, 4°C por 4 horas, evaluando dos buffers, el TEB para un sistema continuo y el POULIK para un sistema discontinuo. Las enzimas esterasa (EST), malato deshidrogenasa (MDH), glutamato deshidrogenasa (GDH), fosfatasa ácida (FAC), fosfatasa alcalina (FALC) y glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) fueron revelados con soluciones específicas³.

Resultados y discusión. Las condiciones en donde se identificó un mayor número de isoenzimas y una mejor resolución fue la siguiente: el sistema de extracción I con el buffer TEB se seleccionó para identificar los sistemas FAC y GDH, y con la extracción II, la identificación de EST y la G6PDH; el buffer POULIK con la extracción I para la isoenzima FALC y en el sistema de extracción II el sistema MDH.



Fig. 1. Perfiles isoenzimáticos de la MDH de los híbridos y las cepas parentales (Flav, CHY)

Los patrones electroforéticos de las isoenzimas de los parentales fueron diferentes, asimismo, los híbridos se distinguieron entre los parentales en algunos perfiles de isoenzimas. En la Figura 1 se muestran los perfiles de la MDH producidos por las cepas. La aparición de nuevas bandas en los híbridos interespecie indicó que pudo haber ocurrido la fusión nuclear. Las diferencias en la expresión fenotípica en los híbridos se atribuyen a los eventos de recombinación que ocurrieron durante la fusión de protoplastos.

Conclusiones. Se establecieron las condiciones para identificar los perfiles de isoenzimas y los resultados obtenidos mostraron que los híbridos presentaron modificaciones como resultado de la recombinación.

Agradecimiento. Este trabajo se realizó con el financiamiento otorgado por el CONACyT, clave 31996B.

Bibliografía.

1. Ayala, F. (1983). Genetic polymorphism: from electrophoresis to DNA sequences. *Experientia*. 39:813-823.
2. Solís, S. (1997). Obtención y caracterización de híbridos por fusión de protoplastos entre cepas de *Aspergillus* productoras de pectinasas. Tesis de Doctorado. UNAM, México.
3. Richardson, B., Baverstock, P., Adams, M. (1986). Allozyme electrophoresis. En: *A handbook for animal systematics and population studies*. Academic Press. Sydney. pp.410.

