



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



LA DIFERENCIACIÓN ZONAL PARA EL ESTUDIO FISIOLÓGICO DE LA PRODUCCIÓN DE POLISACARASAS POR CEPAS DE *ASPERGILLUS*.

González Soto Yessica Isabel¹, Mayola García Rivero¹, María Aurora Martínez Trujillo¹ y Guillermo Aguilar Osorio^{2*}
¹Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, División de Ingeniería Química y Bioquímica, Av. Tecnológico S/N esq. Av. Carlos Hank González, col. Valle de Anáhuac, Ecatepec de Morelos. CP. 55210
²Departamento de Alimentos y Biotecnología. Conj. E., Facultad de Química, UNAM. Cd. Universitaria, CP 04510, México, D.F. Tel: 56 22 53 06, gao@servidor.unam.mx.

Palabras clave: xilanasas, *Aspergillus*, diferenciación zonal.

Introducción. La producción de polisacarasas por hongos del género *Aspergillus* sobre residuos agrícolas ha sido estudiado con detalle, al ser un proceso que sucede frecuentemente en la naturaleza¹. Sin embargo, no ha sido posible explicar con claridad el proceso de crecimiento microbiano y producción de las enzimas, debido a que durante su crecimiento los hongos se desarrollan en una red compleja de hifas interconectadas, que dificulta la identificación de la secuencia de producción y acción de las enzimas². El sistema de diferenciación zonal² puede ser una alternativa para solucionar este inconveniente. El objetivo de este trabajo fue utilizar esta técnica para estudiar la fisiología de los hongos y la identificación de enzimas durante una fermentación sólida en sustratos complejos y mezclas de fuentes de carbono.

Metodología. Para la técnica de la diferenciación zonal, se empleó una membrana de policarbonato (Millipore, 2µm) colocada encima del medio sólido, constituido por solución basal³, agar bacteriológico y salvado de trigo (ST) al 3% P/V. Para verificar el efecto del uso de varias fuentes de carbono simultáneamente, se adicionó xilosa (X) o ácido galacturónico (AG) al 1% P/V. Cada experimento se inoculó con 2×10^5 esporas de las cepas *A. flavus* NRRL-6541 o *A. flavipes* FP-500 sobre la membrana, y se incubó a 37°C durante 5 días, luego de los cuales se retiró la membrana con la biomasa para recuperar el agar de dos zonas: la situada debajo del crecimiento microbiano (centro) y la de la periferia. Para ello se hizo una mezcla homogénea empleando regulador de acetatos 100mM pH 5.0, de la que se cuantificó la actividad enzimática, de acuerdo a lo reportado previamente³.

Resultados y discusión. Ambas cepas producen xilanasas y pectinasas con ST. *A. flavus* es mejor productor de xilanasas (Fig 1A), mientras que *A. flavipes* produce una mayor cantidad de pectinasas (Fig 1B). Los resultados sugieren que estas enzimas son producidas durante el crecimiento microbiano, aunque no es claro si la actividad enzimática detectada es función de la edad fisiológica o de la difusión de las enzimas producidas con anterioridad. Así, otra ventaja de la técnica de diferenciación zonal es el poder desarrollar experimentos más específicos para entender este comportamiento, y poder identificar la secuencia de producción de las enzimas durante el cultivo. El efecto de azúcares

reductores específicos sobre la producción de enzimas por *A. flavipes* (Figura 2) mostró que la actividad xilanólica disminuyó 59.3% en presencia de X, mientras que la actividad pectinolítica aumentó 28.1% en presencia de AG, lo que muestra claramente el efecto represor e inductor, respectivamente, de estos sobre las enzimas¹.

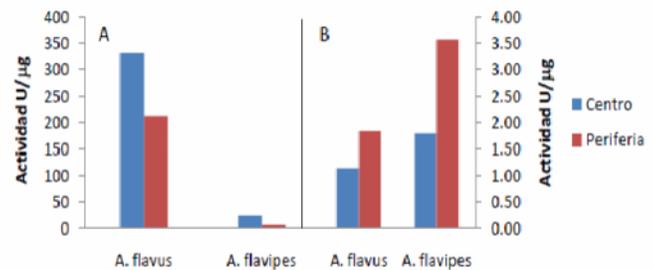


Figura 1. Actividad xilanólica (A) y pectinolítica (B) de las cepas en dos zonas de crecimiento

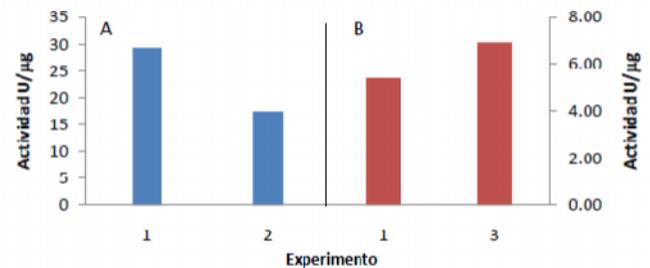


Figura 2. Efecto de azúcares reductores sobre la producción de xilanasas (A) y pectinasas (B) por *A. flavipes* FP-500 en fermentación sólida sobre ST (1), ST + X (2) o ST + AG (3).

Conclusiones. La técnica de diferenciación zonal puede ser de gran utilidad para el estudio fisiológico de la producción de enzimas por los hongos filamentosos en medio sólido, al permitir identificar claramente las enzimas secretadas por el microorganismo a lo largo del cultivo.

Bibliografía.

- De Vries, R., & Visser, J. (2001). *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 497-522.
- Weenink, X. O., Punt, P. J., van den Hondel, C., & Ram, A. F. (2005). A new method for screening and isolation of hypersecretion mutants in *Aspergillus niger*. *Applied microbial and cell physiology*, 5-13.
- Flores Niño, L. (2009). Identificación de las características de las xilanasas producidas por *Aspergillus flavipes* FP-500. Tesis de Maestría. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.