

# CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA DIPLOIDE DE *Aspergillus niger* (DAR2) SOBREPDUCTORA DE PECTINASAS Y DESREPRIMIDA CATABOLICAMENTE

Helue M. García, Jorge Soriano, Gustavo Viniegra-González y Octavio Loera.

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, C.P. 09340 México, D.F. Fax: 58 04 47 12, E-mail: loera@xanum.uam.mx.

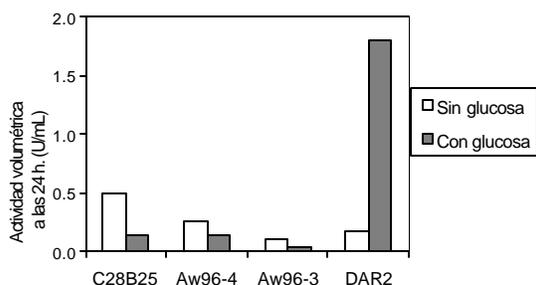
Palabras clave: *Aspergillus*, pectinasas, represión catabólica.

**Introducción.** La recombinación parasexual ha permitido el aislamiento de una cepa diploide (D4) con mejores niveles de producción de enzimas a partir de la cruce entre cepas mutantes de *A. niger* (1). Recientemente fue obtenido un diploide (DAR2) sobreproductor de invertasa, a partir de la cruce parasexual de las cepas mutantes Aw96-3 y Aw96-4 obtenidas de la cepa silvestre C28B25 (2).

En el presente trabajo se pretendió evaluar el grado de represión catabólica en el diploide DAR2, en las cepas que le dieron origen y en la cepa silvestre, por medio de un análisis cuantitativo del rendimiento de pectinasas por gramo de biomasa ( $Y_{E/X}$ ) para cada cepa, usando pectina como fuente de carbono, en presencia y ausencia de glucosa como azúcar represor.

**Metodología.** Las cepas de *Aspergillus niger* utilizadas fueron: C28B25, Aw96-4, Aw96-3 y el diploide DAR2. La metodología empleada fue descrita previamente (3). Cada valor de rendimiento (U/ g de biomasa) se obtuvo como la pendiente de la gráfica de biomasa contra actividad volumétrica, durante el tiempo de producción inicial en las fermentaciones.

**Resultados y Discusión.** En la Figura 1 se observa la producción de pectinasas a las 24 h para las cepas



estudiadas, tanto en un medio sin glucosa, como con glucosa.

Fig. 1. Producción de pectinasas a las 24 h para las cepas C28B25, Aw96-4, Aw96-3 y DAR2, en presencia y ausencia de glucosa.

La producción de pectinasas disminuye en presencia de glucosa para todas las cepas estudiadas, excepto para el diploide DAR2, en el cual la actividad es 10 veces mayor en presencia de este azúcar, además es 7 y 17 veces mayor que las cepas Aw96-4 y Aw96-3 respectivamente y 3 veces más grande que la cepa silvestre (C28B25).

El rendimiento para cada cepa se muestra en el Cuadro 1. Las cepas C28B25, Aw96-4 y Aw96-3, están fuertemente reprimidas (porcentaje de cambio negativo), debido a que el rendimiento de pectinasas disminuye considerablemente en presencia de glucosa. La cepa DAR2 se encuentra desreprimida catabólicamente, ya que el rendimiento de pectinasas es mayor en presencia de glucosa (porcentaje de cambio positivo).

Cuadro 1. Rendimiento en la producción de pectinasas ( $Y_{E/X}$  Unidades de enzima / gramo de Biomasa).

Cepa	$Y_{E/X}$ sin glucosa (A)	$Y_{E/X}$ con glucosa (B)	Cambios % ((B-A)/A)*100
C28B25	1638.20	120.61	-93
Aw96-4	2562.10	614.45	-76
Aw96-3	632.08	73.97	-88
DAR2	543.28	987.31	+82

**Conclusiones.** Las cepas C28B25, Aw96-4 y Aw96-3 están reprimidas catabólicamente, sin embargo, el diploide al que dieron origen (DAR2) se encuentra desreprimido. En un medio con glucosa la cepa DAR2 sobreproduce pectinasas en comparación con las cepas Aw96-4 y Aw96-3. Estos tipos de cepas son interesantes, por los niveles altos de enzima producida aún en presencia de azúcares más fácilmente asimilables y más económicos, como la glucosa. Se observó que la cruce parasexual puede mejorar genéticamente a las cepas para obtener un incremento en la producción de pectinasas. Los patrones de sobreproducción de estos diploides también han sido observados para otro tipo de enzimas como xilanasas, invertasa, amilasas y celulasas en estudios recientes en nuestro laboratorio.

## Bibliografía.

- Loera, O. Aguirre, J. Viniegra-González, G. (1999). Pectinase production by a diploid construct from two *Aspergillus niger* pectinase overproducing mutants. *Enzyme Microb Technol*, 25(1-2): 103-108.
- Montiel, A. (2000). Evaluación de la recombinación parasexual en cepas de *Aspergillus niger* para mejorar la producción de enzimas en cultivo en estado sólido. Tesis de Maestría, U.A.M.-I, México, D.F.
- García, H. Soriano, J. Viniegra-González, G. Loera, O. (2000). Identificación de fenotipos de desrepresión catabólica en cepas diploides y haploides de *Aspergillus niger* sobreproductoras de pectinasas. Simposium Internacional de Biotecnología. UPIBI-IPN, México, D.F., Septiembre 2000, pág. 68.