

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE BACTERIAS HALÓFILAS PRODUCTORAS DE AGARASAS

Frank Aguilar-Viveros, Sara Solís-Pereira, Gabriel Lizama-Uc y Gerardo Rivera-Muñoz,
Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Mérida, Departamento de Química y Bioquímica
Mérida, Yucatán, México C.P. 97118, albatros1953@msn.com

Palabras clave: Sargassum, alginato liasas, agarasas.

Introducción. Las agarasas son enzimas capaces de degradar el agar. La importancia de este particular efecto reside en la obtención de oligómeros con actividades biológicas importantes. Los oligómeros obtenidos a partir de la hidrólisis enzimática del agar tienen potencial como agentes antioxidantes, agentes bacteriostáticos, como conservadores de alimentos, humectantes y blanqueadores de manchas en la piel, en la preparación de protoplastos y todos ellos compuestos de interés y alto valor agregado. Las agarasas son utilizadas también en la recuperación de DNA de geles de agarosa (2).

En este trabajo se reporta el aislamiento bacterias presentes en la biomasa conocida como sargazo de arribazón de las costas del puerto de Telchac, Yucatán, con la capacidad de producir estas enzimas.

Metodología. La primera etapa del proceso de aislamiento fue enriquecimiento de la población de cepas bacterianas presentes en muestras de sargazo de arribazón. Las muestras se enriquecen por 21 días con lapsos de 7 días para re-inocular cada cultivo en el mismo medio, pero en condiciones de esterilidad. Las condiciones del cultivo fueron; 40°C, pH 7, 200 RPM y 35 g/L de NaCl. Posteriormente se utilizaron condiciones de presión selectiva usando una variante del medio de cultivo descrito por Wenfang (3). Y como inductor Agar bacteriológico al 1% (w/v) bajo las mismas condiciones en que se realizó el enriquecimiento inicial. La determinación cualitativa de la actividad enzimática se realiza en medios sólidos en placas de Petri con las mismas condiciones de pH e incubados durante 48, 72 y 120 y 144 hrs a 40°C mediante la detección de la presencia de halos de hidrólisis, pocetas y/o licuefacción de los medios de cultivo. La selección y clasificación de las cepas se realizó en base a su capacidad para utilizar el agar como sustrato. El aislamiento y preselección se llevó a cabo en base al índice de potencia de las cepas bacterianas aisladas.

Resultados. El aislamiento y la selección de bacterias halófilas productoras de agarasas de la costa de Telchac, Yucatán arrojó un total 4 cepas. todas 4 de ellas capaces de producir agarasas al ser incubadas durante 72 hrs. Los lugares de muestreo junto con las características generales del cultivo se presentan en la **Tabla 1**. Durante el aislamiento se detectó una cepa o consorcio (aún por definir) con una impresionante capacidad de licuar el medio de cultivo sólido con las sales y la modificación del medio descrito por Wenfang, 1% (w/v) de agar bacteriológico a partir de las 144 hrs de incubación (**Figura 1**). En la **Tabla 2** se muestran los datos usados para determinar el índice de potencia de las cepas aisladas y crecidas durante 48 horas, de entre ellas destaca la cepa TEL-7HM40-04 con índice de potencia de 8.0, aunque también resulta interesante la cepa TEL-7HM40-02 con un índice de potencia de 7.0



Fig. 1. Licuefacción del medio por actividad enzimática

Tabla 1. Condiciones usadas para el aislamiento

Zona de muestreo	% NaCl	Material recolectado	Condiciones de cultivo	Fuente de carbono
8PR6+RJ Telchac Puerto, Yucatán	3.6	<i>Sargassum sp</i>	40° C	Agar bacteriológico
			pH 7.0	
8PR6+R4 Telchac Puerto, Yucatán	3.6	<i>Sargassum sp</i>	40° C	Agar bacteriológico
			pH 7	

Tabla 2. Índices de potencia de las bacterias aisladas

Cepa	Diámetro de la colonia (mm)	Diámetro del halo de hidrólisis (mm)	Índice de potencia	Profundidad (mm)
TEL-7HM40-01	1.0	4.0	4.0	0.4
TEL-7HM40-02	0.5	3.5	7.0	0.2
TEL 7HM40-03	0.5	3.0	6.0	0.5
TEL-7HM40-04	0.5	4.0	8	0.4

Conclusiones. Se logro aislar cuatro cepas con la capacidad de hidrolizar el agar en placas de Petri, actualmente se esta trabajando en la producción fermentativa de esta enzima usando las cuatro cepas aisladas con el fin de determinar la actividad volumétrica y especifica de todas las cepas y usar estos parámetros para la selección de una cepa y realizar con esta los experimentos de producción fermentativa y posteriormente la caracterización de esta enzima.

Bibliografía

1. Xiao Ting Fu, Sang Moo Kim. (2010), *Mar Drugs*, 8:200-218.
2. Thiang YianWong, Lori A. Preston, Neal L. Schiller. (2000). *Annu Rev Microbiol*, 54:289-340.
3. Wenfang Dou *et al.* (2013), *Carbohydr Polym*, 98:1476- 1482.