



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



HOJA DE LIMÓN Y QUITOSANO COMO INDUCTORES PARA PRODUCCIÓN DE QUITINA DESACETILASAS DE *Colletotrichum gloeosporioides* EN CULTIVO LÍQUIDO Y SÓLIDO.

Carolina De Santiago, Neith Pacheco y Keiko Shirai.

Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Biopolímeros. Av. San Rafael Atlixco No.186. Col. Vicentina, México, D.F. C.P. 09340. Tel. (5)804 4921. smk@xanum.uam.mx

Palabras clave: quitina desacetilasa, *Colletotrichum gloeosporioides*, quitosano, hoja de limón.

Introducción. Durante el proceso de fitopatogénesis, la planta secreta quitinasas para hidrolizar la quitina de la pared celular del hongo, como mecanismo de defensa este desacetila su pared celular, produciendo quitina desacetilasas (CDAs) (1). Debido a lo anterior en presencia de tejido vegetal es probable un aumento en la actividad CDA. Por otra parte se ha reportado que en presencia de quitosano el fitopatógeno *Rhizopus stolonifer* aumentó su producción de CDAs (2).

En este trabajo se determinaron las actividades CDA en cultivo en medio líquido (SmC) y sólido (SSC), con glucosa y sacarosa como fuente de carbono, en presencia de hoja de limón y quitosano como inductores.

Metodología. Se realizaron cinéticas en SmC y SSC con duración de 96 h utilizando sacarosa o glucosa como fuente de carbono y ácido glutámico como fuente de nitrógeno (3), inoculado 1×10^6 esporas/mL de *C. gloeosporioides*. Se agregaron hojas de limón (*Citrus limón*) o Quitosano con DA 36% y M_w 255kDa. La determinación de proteína se realizó mediante la técnica de Lowry-Peterson (4) y las actividades CDA fueron realizadas por el método Kauss y Bauch (5).

Resultados. Como se muestra en la Figura 1, la cantidad de proteína aumentó al adicionar la hoja de limón y quitosano en los dos sistemas de cultivo probados.

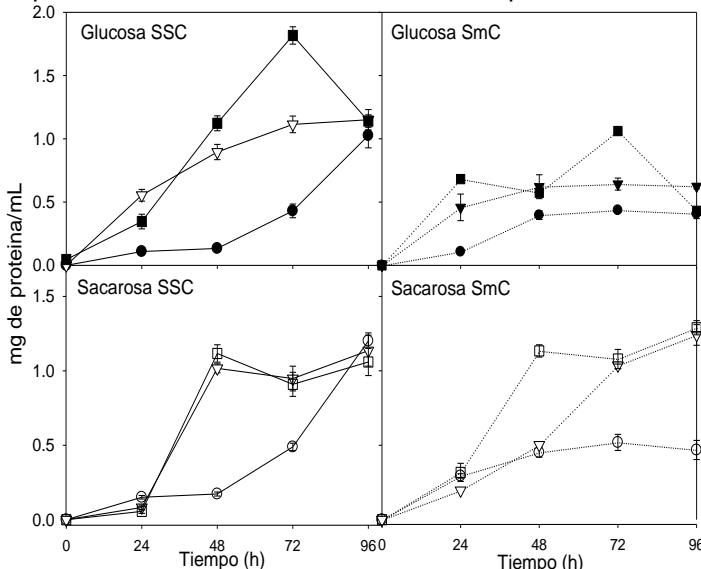


Fig. 1. Cinéticas de concentración de proteína (mg/mL) en SSC (—) y SmC (....) utilizando glucosa: control (●), hoja de limón (▼), quitosano (■), y sacarosa: control (○), hoja de limón (▽), quitosano (□).

La actividad enzimática se incrementó en ambos sistemas adicionados con hoja de limón. En medio sólido la mayor actividad enzimática se produjo después de las 48h mientras que en medio líquido se observó durante las primeras 48h. Los valores observados son mayores a los obtenidos por Tokuyasu *et al.*, en 1996 (6).

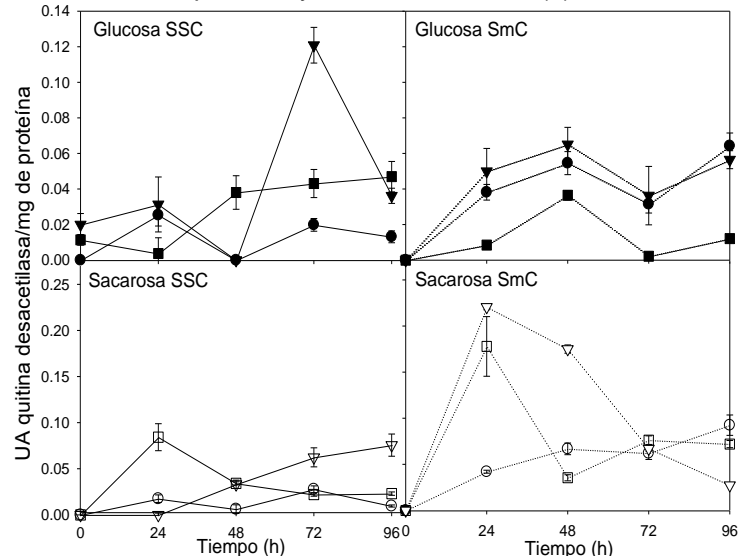


Fig. 2. Actividad CDA en SSC (—) y SmC (....) utilizando glucosa: control (■), hoja de limón (▼), quitosano (●), y sacarosa: control (□), hoja de limón (▽), quitosano (○).

Conclusiones. El uso de sacarosa mostró mayor actividad quitina desacetilasa en medio líquido. La adición de hoja de limón en ambos sistemas incremento la actividad respecto al control, hasta en un 400% a las 72h utilizando glucosa en medio sólido. Esto puede deberse a que la hoja al ser dañada mecánicamente libera sustancias (7), algunas de ellas capaces de desencadenar la producción de CDAs.

Agradecimiento. Los autores de este estudio agradecen a CONACyT No. 105628 por el financiamiento otorgado.

Bibliografía.

1. Banks I., Specht C., Donlin M., Gerik K., Levitz S., Lodge J. (2005). *Eukaryot. Cell.* 4(11): 1902-1912.
2. El Ghaouth A., Arul J., Grenier J., Asselin A. (1992). *Experim. Mycol.* 16: 173-177.
3. Tsigos I. and Bouriotis V. (1995). *J. Biol. Chem.* 270: 26286-26291.
4. Peterson GL. (1977). *Anal Chem.* 83: 346-353.
5. Kauss H. and Bauch B. (1988). *Methods Enzymol.* 161:518-523.
6. Tokuyasu, K., Ohnishi-Kameyama M, Hayashi, K. (1996). *Biosci. Biotech. Biochem.* 60 (10):1598-1603.
7. Arimura G. Kost C. Boland W. (2005). *Biochim. Biophys. Acta* 1734: 91- 111.