

### PRODUCCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD QUITOSANASA EN CÉLULAS BACTERIANAS AISLADAS DEL VALLE DE CUATROCIÉNEGAS, COAHUILA

A. V. Charles-Rodríguez<sup>2</sup>, J. E. Mauricio-Benavides<sup>1\*</sup>, P. Pascual-Yescas<sup>2</sup>, Y. Garza-García<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés S/N  
<sup>2</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923 Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, (844)4110337, juanmauricio@mail.uadec.mx

Palabras clave: *Bacillus sp.*, quitooligosacáridos, quitosanasa

**Introducción.** Cuatrociénegas Coah, Mex, es un valle rico en fauna y flora con miles de especies endémicas. En años recientes importantes estudios han demostrado que los microorganismos cultivados en este valle (*Bacillus*, *Halomonas*, *Vibrio*, *Oceanomonas*, *Halobacterium*, *Calotrix*) son una importante fuente para futuras investigaciones con aplicaciones biotecnológicas. Las enzimas quitinolíticas han sido encontradas en una gran variedad de microorganismos incluyendo bacterias y hongos además de plantas superiores (Souza, 2006). Estas enzimas son útiles para obtener quito-oligosacáridos los cuales tienen propiedades biológicas importantes. El objetivo de este trabajo fue la producción y cuantificación de una exo-quitosanasa de microorganismos extremófilos aislados del valle de Cuatrociénegas, para la obtención de quitooligosacáridos.

**Materiales y Métodos.** Microorganismos: Cinco células pertenecientes al género *Bacillus sp.* fueron aislada de climas extremos del valle de Cuatrociénegas y caracterizadas metabólicamente por Mauricio-Benavides en 2007. Screening: se utilizaron placas conteniendo oligosacáridos de quitosán (OQ) al 1%, %, NaCl 0.5 %, NaNO<sub>3</sub> 0.3%, KCl 0.5 %, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2%, MgSO<sub>4</sub> 0.01% y agar bacteriológico 2%. Proliferación bacteriana: los microorganismos fueron cultivados en 50 ml de medio, empleando cultivos monitoreados cada 24 h durante 192 h a 37°C con agitación de 150 rpm. Extracto enzimático: el paquete celular se separó mediante centrifugación a 10000 rpm por 25 min a 4°C y el sobrenadante se empleo como extracto enzimático. Determinación de AE: 240 µl de quitosán 5.0% disuelto en buffer AAANA 1 M pH 5.5 se le adicionó 10 µl de extracto enzimático en cinéticas de 0, 5, 10, 25, 40, 60, min a 40°C y monitoreados mediante la liberación de azúcares reductores (Somogyi-Nelson). Una unidad de actividad quitosanasa es definida como la cantidad de AR liberados (mg/100 mg quitosán) al 1.0 % por cada 10 µl de extracto enzimático en 60 min.

**Resultados y Discusión.** La Figura 1 muestra el crecimiento celular de los 5 bacilos estudiados, donde se puede observar que el B1 tiene su máximo crecimiento a

las 24 h ( $\mu=0.0022$  OD/h) y la mas alta concentración de proteína extracelular (0.49mg/ml) y 112 U de actividad quitosanasa; B2 a las 72 h ( $\mu=0.0026$  OD/h), 0.47 mg/ml de proteína extracelular y 308 U; B3 a las 48 h ( $\mu=0.0023$  OD/h), 0.50 mg/ml de proteína extracelular y 242 U de actividad; B4 a las 96 h ( $\mu=0.002$  OD/h), 0.43 mg/ml de proteína extracelular y 382 U de actividad; y B5 a las 48 h ( $\mu=0.0044$  OD/h), 0.51 mg/ml de proteína extracelular y 432 U de actividad quitosanasa. Estos resultados superan los presentados por Charles-Rodríguez en 2008 en células de *Bacillus cereus* con actividades de hasta 217 U empleando oligosacáridos de quitosán comerciales como única fuente de carbono para la producción de una quitosanasa.

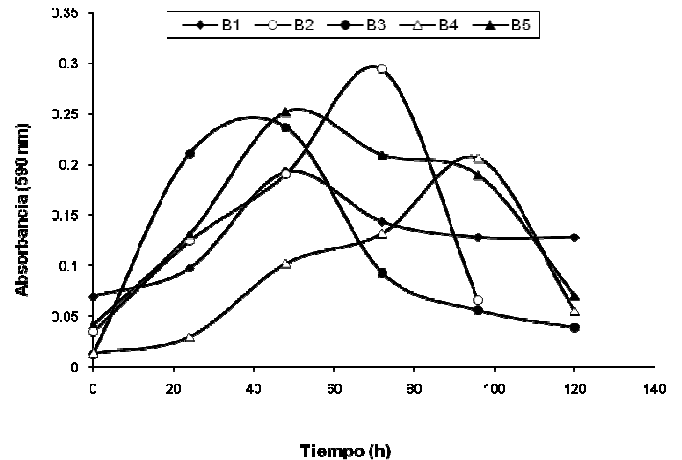


Figura 1. Crecimiento microbiano de células aisladas del valle de Cuatrociénegas, Coahuila.

**Conclusión.** Células del género *Bacillus sp* aisladas del valle de Cuatrociénegas representan una fuente de nuevos biocatalizadores para diversos procesos biotecnológicos.

**Agradecimientos.** Al Departamento de Biotecnología de la UAdeC y al Departamento de Producción Animal de la UAAAN, por el apoyo para la realización de este proyecto.

**Bibliografía.** Charles-Rodríguez (2008). Chitosanase production by a new bacterial source. Res.J.Biol. Sci.3(8):957-963.- Souza, V. et al.,(2006). And Endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the chihuahuan dessert. PNAS 103:6565-6570.