

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

A. V. Charles-Rodríguez², J. E. Mauricio-Benavides^{1*}, P. Pascual-Yescas², Y. Garza-García¹

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés S/N

² 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 %, NaNO₃ 0.3%, KCl 0.5 %, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄ 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.

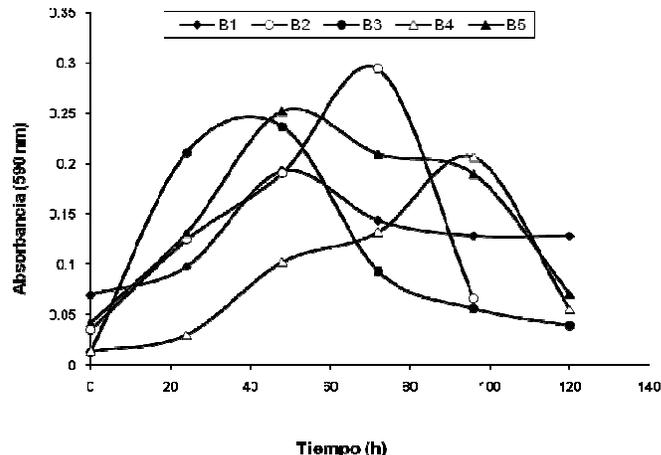


Figura 1. Crecimiento microbiano de células aisladas del valle de Cuatrociénegas, Coahuila.

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.