



ACTIVIDAD QUITOSANASA DE *Aeromonas sp* AISLADA DEL VALLE DE CUATROCIÉNEGAS COAHUILA

Ana Verónica Charles-Rodríguez*, Juan Carlos Contreras-Esquivel, Cristóbal Aguilar-González, Raúl Rodríguez-Herrera, Jesús Rodríguez-Martínez, Juan Enrique Mauricio-Benavides y Yolanda Garza-García

Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila.

Bldv. V. Carranza y José Cárdenas Valdez. S/N Saltillo, Coah. Fax: 844-4155752 *anavero06@hotmail.com

Palabras clave: Quitosán, viscosidad, extremófilos

Introducción: Cuatrociénegas Coahuila, México es un valle rico en fauna y flora con miles de especies endémicas. Las “Dunas de Yeso”, tiene arenas con altas concentraciones de sales como sulfato de calcio y sus temperaturas son mayores de 40°C (esto hace que los microorganismos que crecen en estas condiciones resistan concentraciones extremas de sales y temperaturas). Los requerimientos nutricionales del agua son un factor importante en las Pozas (Poza Azul y Poza de la Becerra) por su baja concentración de fósforo y amplio rango de pH (7.0-9.7). (1). 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. Estas enzimas son útiles para obtener quitosán-oligosacáridos los cuales tienen propiedades biológicas importantes (2). El objetivo de este trabajo fue la producción de una exo-quitosanasa de un microorganismo extremófilo de la región indicada.

Metodología: Microorganismos: *Aeromonas sp*, fue aislada de climas extremos del valle de Cuatrociénegas y caracterizada mediante API 20E. *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus cereus* pertenecen al cepario del Depto. de Biotecnología (UAdeC). Selección: se utilizaron placas conteniendo quitosán-oligosacáridos 1%, NaCl 0.5 %, NaNO₃ 0.3%, KCl 0.5 %, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄ 0.01% y agar bacteriológico. Proliferación bacteriana: los microorganismos fueron cultivados en matraces de 250 ml (medio líquido) empleando cultivos monitoreados cada 24 h durante 192 h a 37°C a 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: 9.5 ml de quitosán 1.32% disuelto en buffer AAANA 50 mM pH 5.5 en un viscosímetro de Oswald se le adicionó 0.5 ml de extracto enzimático en cinéticas de 0, 5, 10, 25, 40, 60, 80, 110, 150 y 180 min a 40°C. Una unidad de actividad quitosanasa es definida como los mililitros de quitosán al 1.32 % hidrolizado al 50% en 180 min de degradación (D) por 0.5 mililitros de extracto enzimático.

Resultados y Discusión: *Pseudomonas aeruginosa* en placa no presentó un crecimiento homogéneo por lo que fue un factor limitante para su proliferación. *Bacillus cereus* y *Aeromonas sp*., presentaron un crecimiento

celular después de las 48 h con una μ_r of 0.0018 OD/h y 0.007 OD/h, respectivamente. Ambos microorganismos entraron en fase estacionaria a las 96 h. La concentración de proteína fue 0.1999 y 0.1949 mg/ml para *B. cereus* y *Aeromonas sp*. respectivamente.

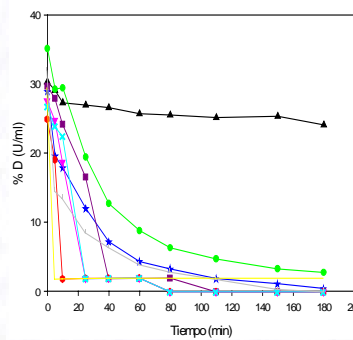


Fig 1. *Aeromonas sp*.

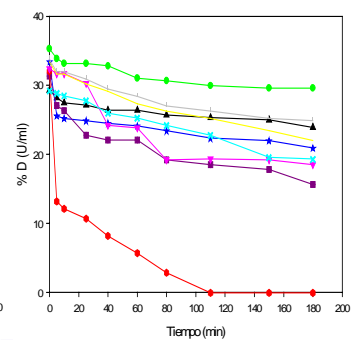


Fig 2. *Bacillus cereus*.

—▲— 0 h —●— 24 h —★— 48 h —■— 72 h —●— 96 h
—▼— 120 h —✕— 144 h —□— 168 h —■— 192 h

En la Figura 1 se puede observar que el %D en *Aeromonas sp*., es mayor, ya que hidroliza al quitosán en un 100% a partir de las 48 hrs, no siendo el caso para *Bacillus cereus* (Figura 2). Estos resultados coinciden con los reportados por Kuk y col. (3) el cual presenta una actividad de 1.44 U/ml a 40 °C.

Conclusiones: *Aeromonas sp*., un microorganismo aislado de climas extremos de Cuatrociénegas Coahuila, México fue capaz de producir altos títulos de actividad quitosanasa la cual puede ser empleada para la producción de quitosán-oligosacáridos.

Agradecimiento: Fondo Mixto-Conacyt-Puebla.

Bibliografía: 1. Souza, Valeria, *et al.* (2004). Cuatro Ciénegas, un laboratorio de astrobiología. *Ciencias* 75, 4-12
2. Suzuki, S., Susuki, K., Tokoro, A., Okawa, Y. and Suzuki, M. (1986) in *Chitin in Nature and Technology* (Muzzareli, R.A. A., Jeuniaux, C. and Gooday, G. W., eds *et al*) *Plenum Press New Cork*. 485-492.
3. Kuk, J. H., W. J. Jung., G. H. Jo., Y. C. Kim., K. Y. Kim., R. D. Park (2005). Production of N-acetyl-β-D-glucosamine from chitin by *Aeromonas sp*. GJ-18 crude enzyme. *Appl. Microbiol.* 68: 384-389.