



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## IDENTIFICACIÓN DE ACTIVIDADES $\beta$ -FRUCTOSIDASAS EN *Fusarium solani* Y *Fusarium oxysporum* EN PRESENCIA DE AGAVINAS COMO AGENTE INDUCTOR

Laura L. Rentería-Gutiérrez<sup>a</sup>, Ana Lilia Peraza-Campos<sup>a</sup>, N. Alejandra Mancilla-Margalli<sup>b</sup>, Juan A. Osuna-Castro<sup>c</sup>, Martín E. Ávila-Miranda<sup>b</sup>. <sup>a</sup>Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Colima, km 9 Carr. Colima-Coquimatlán, Colima, 28400, l.lizrenteria@gmail.com; <sup>b</sup>Instituto Tecnológico de Tlajomulco Jalisco, km 10 carr. a San Miguel Cuyutlán, Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, 45640; <sup>c</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima km 40 Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima, 28100.

*Palabras clave:* Fructosidasas, *Fusarium spp.*, Agavinas.

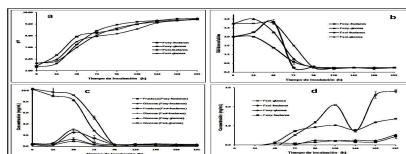
**Introducción.** Luego de un análisis costo-beneficio, hidrólisis enzimática de polímeros de fructosa (fructanos) parece ser el mejor procedimiento para la producción industrial de fructosa (Fru)(1). Considerando el alto contenido de fructanos en *Agave* [citados como agavinas por su relación particular de enlaces  $\beta(2\rightarrow1)/\beta(2\rightarrow6)$ ](2), se tiene que *Fusarium oxysporum* y *F. solani*, fitopatógenos de *Agave* (3), deben contar con enzimas capaces de utilizar a los fructanos presentes en la planta, puesto que pueden sobrevivir en ella hasta enfermarla. Por tal motivo, en este trabajo, se busca evidenciar la presencia de actividades fructosidasas capaces de hidrolizar a este tipo de carbohidratos.

### Metodología.

Cepas de *F. oxysporum* o *F. solani* aisladas de *Agave tequilana* fueron crecidas en medios enriquecidos con glucosa (Glc) o agavinas (agav) para ensayar 4 tratamientos distintos, que fueron incubados a 30 °C con agitación. Se realizó un muestreo cada 24 h durante 8 días. En cada muestra se determinó parámetros bioquímicos como pH, sólidos solubles, azúcares reductores<sup>4</sup> y proteínas excretadas al medio. Después de 192 h, se recuperó el extracto proteínico total del medio de incubación y se ensayó la actividad enzimática. Los productos de reacción fueron revelados mediante cromatografía en capa fina, TLC. Finalmente, mediante el procedimiento de doble recíprocos, se determinó  $K_m$  de la mezcla cruda de fructosidasas de *F. oxysporum* y *F. solani* hacia diferentes sustratos (1-kestotriosa, inulina de achicoria y agavinas).

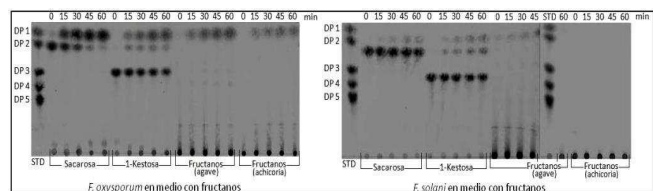
### Resultados.

A lo largo del experimento, todos los tratamientos tendieron a la alcalinización del medio. El análisis del perfil de parámetros bioquímicos, reveló una mayor cuantificación de Fru y Glc a las 48 h por la probable acción de una enzima de carácter celular (Figura 1).



**Fig. 1.** Perfiles de (a) pH, (b) sólidos solubles, (c) azúcares reductores y (d) excreción de proteínas al medio.

Únicamente los extractos proteínicos obtenidos de medios enriquecidos con agavinas mostraron actividad fructosidasa, por lo tanto, se estableció que las enzimas identificadas (invertasas y exo y endo- $\beta$ -fructosidasas) son inducibles por esta fuente de carbono. Por otra parte, las enzimas de *F. oxysporum* presentaron mayor actividad que las de *F. solani* (Figura 2).



**Fig. 2.** Actividades enzimáticas de *F. oxysporum* y *F. solani* usando como sustratos sacarosa (Suc), 1-kestotriosa (1-Kes), agavinas e inulinas de achicoria.

Valores de  $K_m$  fueron mayores cuando el extracto enzimático de *F. oxysporum* se incubó con fructanos con enlaces  $\beta(2\rightarrow1)$  (1-Kes e inulina de achicoria). La  $K_m$  del extracto de *F. solani* en presencia de Suc fue menor al de *F. oxysporum* (Tabla 1).

**Tabla 1.**  $K_m$  de fructosidasas crudas de *F. oxysporum* y *F. solani*

|                     | 1-Kes    | Agavina       | Inulina       |
|---------------------|----------|---------------|---------------|
| <i>F. oxysporum</i> | 11.61 mM | 1.07 mM       | 2.71 mM       |
| <i>F. solani</i>    | 5.33 mM  | Sin actividad | Sin actividad |

**Conclusiones.** Las actividades  $\beta$ -fructosidasas fueron inducidas en *F. oxysporum* y *F. solani* por la presencia de agavinas. Sin embargo, la afinidad a los sustratos y parámetros cinéticos difirieron en ambas cepas.

### Bibliografía.

1. Chi, Z. Chi, Z., Zhang, T., Liu, G. y Yue, L. (2009). *Appl Microbiol Biotechnol.* 82 (2): 211-220.
2. Mancilla-Margalli, N. A. y López, M. G. (2006). *J. Agric. Food Chem.* 54 (20): 7832-7839.
3. Leslie, J. y Summerell, B. (2006). En: *The Fusarium Laboratory Manual.* Blackwell Publishing, Ames, IA, USA. 338 p.
4. Ting, S. (1956). *J. Agric. Food Chem.* 4 (3): 263-266.