

## Cutinasas producidas por hongos fitopatógenos aislados de *Agave salmiana*

Edwin Alexis Puente-Ríos, María Elena Cantú-Cárdenas, Julio Silva-Mendoza.

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, 66455, edwinpuenterios1998@gmail.com

**Palabras clave:** cutinasas, hongos, *Agave salmiana*.

### Introducción

Las cutinasas pertenecen a las hidrolasas, siendo esterasas cuya función consiste en degradar la cutina de las plantas, por lo cual son producidas por microorganismos como hongos fitopatógenos, aunque actualmente ya se ha descubierto que pueden provenir de otras fuentes. Una ventaja es su amplio margen de usos, debido a sus características.<sup>1-3</sup>. Debido a la amplia distribución del agave en el país, y como el *Agave salmiana* es una planta extendida por la región, se espera aprovechar las hojas para producir las cutinasas.

El estudio se enfoca en usar las hojas del agave para aislar y seleccionar hongos productores de cutinasas, para caracterizarlas y aplicarlas en biorremediación.

### Metodología

Se realizó la técnica de dilución y siembra en placa para el aislamiento de los hongos, a pencas de agave deterioradas. Para esto se realizó un medio mínimo modificado ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{CaCl}_2$ ), utilizando rojo de fenol como indicador a un pH de 8.3, y 1% p/v de aceite de oliva, esto con el fin de revelar la producción de esterasas, como un halo color amarillo<sup>4</sup>. De los hongos que se llevaron a incubación a 28°C por 5 días, se seleccionó aquellos con el mayor valor de índice de potencia, que es la relación entre el halo de hidrólisis y de crecimiento. Posteriormente se realizaron un examen macroscópico y microscópico a cada hongo para identificarlos. Para determinar si las esterasas producidas son cutinasas, se realizó una prueba con los hongos, cultivándolos en matraces con un contenido de 25 mL de medio mínimo modificado, cutina al 1% p/v extraída de cutícula del agave, a pH de 4.9, incubadas a 130 rpm, a 28°C por 5 días, y como control se dejó un matraz sin inóculo. Una vez observado crecimiento dichos matraces, se procedió a realizar otra prueba para determinar cuál producía mayor biomasa, agregando 3 aceites más (girasol, soya y canola), y se pesó la biomasa obtenida en cada uno en papel filtro, previamente secado a 60°C, y se conservó el sobrenadante para uso futuro. Para determinar que sí se produjeron enzimas, se realizó una prueba rápida a diario en la que se colocó sobrenadante tanto del medio acuoso como del aceitoso en un tubo que contenía reactivo de Bradford y otro con rojo de fenol y se esperó hasta ver si había un cambio de color en dichos tubos.

### Resultados y discusión

Se obtuvieron 52 aislados, de los cuáles 9 mostraron mayor actividad enzimática esterasa, y solo 3 obtuvieron el mayor

índice de potencia (1.48 en A8, 1.5 en T2 7-12 y 1.52 en T3 7-12). De acuerdo con los exámenes macroscópicos y microscópicos, en base a lo observado y comparando con la literatura, se determinó que los hongos correspondían a los géneros *Aspergillus* y *Alternaria* (Fig. 1).

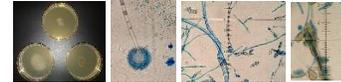


Fig. 1. Examen macroscópico y microscópico a los hongos.

En cuanto al crecimiento de los hongos en los matraces, sí hubo crecimiento en aquél con cutina, por lo que indica que sí producen cutinasas (Fig. 2).

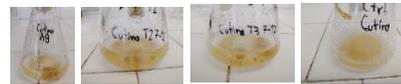


Fig. 2. Crecimiento de hongos en medio mínimo con cutina.

En la prueba en la que se usaron distintas fuentes de carbono, el aceite de soya mostró la mayor biomasa producida respecto a los demás en 2 de los 3 hongos (0.0188 g en A8 *Aspergillus*, y 0.0144 g en T3 7-12 *Alternaria*). En cuanto a la prueba con el reactivo de Bradford y el rojo de fenol, solamente A8 mostró un cambio de color en ambos tubos (Fig. 3).

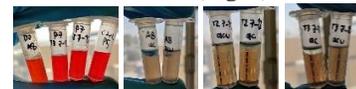


Fig. 3. Pruebas con reactivo de Bradford y rojo de fenol.

### Conclusiones

Se aislaron hongos productores de cutinasas a partir de *Agave salmiana*, A8 mostró ser quien produjo enzimas respecto a los demás hongos.

### Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Químicas por el uso de sus instalaciones y a Conacyt por la beca otorgada.

### Referencias

1. Fortuna, S.; Cespuigli, M.; Todea, A.; Pellis, A.; & Gardossi, L. (2021). *Catalysts*, 11(7), 1–16.
2. Castro-Ochoa, D.; Peña-Montes, C.; & Farrés, A. (2010). *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 13(1), 16–25.
3. Xu, Z. (2020). *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*, 450(1).
4. Rueda-Rueda, H.; Prieto-Correa, E.; & Jiménez-Junca, C. (2020). *Dyna*, 87(214), 183-190.