UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS

Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Aislamiento, Purificación y Caracterización Cinética de Proteasas Glicosiladas de *Rhyzopertha dominica*

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presenta:

I.T.A. Fernanda Sacnité Zavala Ibarra

Hermosillo, Sonora Abril 2022

RESUMEN

Una de las principales estrategias utilizadas por las plantas para contrarrestar el ataque de insectos es la producción de inhibidores de enzimas. *Rhyzopertha dominica* es una plaga que se alimenta del grano de trigo ocasionando serias pérdidas económicas y de calidad. Sin embargo, la producción de enzimas insensibles a los inhibidores o la sobreproducción de enzimas como las enzimas glicosiladas son parte de una estrategia eficaz para que los insectos logren resistir este tipo de inhibición. En este trabajo de investigación, se observó la presencia de proteasas glicosiladas en el sistema digestivo de *R. dominica*. Se obtuvieron las enzimas proteolíticas del insecto a partir de las progenies emergidas de los trigos variedad Villa Juárez, Kronstad y Borlaug mismos que presentaron los niveles más bajo, intermedio y más alto de inhibición, con valores de 307.42 UI/mg (23.33 %), 627.21 UI/mg (55.56 %) y 824.41 UI/mg (74.44 %), respectivamente, ante el extracto enzimático de *R. dominica.* Estos extractos fueron purificados por medio de cromatografía de interacción hidrofóbica y posteriormente por cromatografía de afinidad a Concanavalina-A. En los zimogramas se lograron detectar las mismas bandas en ambas cromatografías, con la característica de la modificación en la actividad específica enzimática.

En los ensayos se encontró que los parámetros cinéticos en proteasas glicosiladas de *R. dominica* los valores de *Km* fueron menores que los valores correspondientes de las formas no glicosiladas (31.5 % del valor de *Km* de las formas no glicosiladas). Por otra parte, los valores de velocidad máxima V*max* de la actividad proteolítica glicosilada fueron más elevados que en la no glicosilada en las tres progenies. En consecuencia, la eficiencia catalítica (V*max* /*Km*), reveló que las proteasas glicosiladas en todas las progenies son catalíticamente más eficientes que las proteasas no glicosiladas. Se observó que existe una significativa correlación positiva (r = 0.99) entre la actividad inhibitoria de los trigos respecto a la concentración de proteína glicosilada y no glicosilada en el extracto enzimático emergida del mismo trigo. En contraste, la actividad específica enzimática presentó una relación inversa (r= -0.80) con la actividad específica inhibitoria de los trigos. Los resultados de este estudio mostraron que las proteasas glicosiladas de *R. dominica* poseen una alta afinidad con los inhibidores de proteasas de trigo permitiendo que las no glicosiladas actúen hidrolizando a las proteínas.