

Diseño de biosensores para *Fusarium oxysporum* basados en fibras ópticas funcionalizadas

Design of biosensors for *Fusarium oxysporum* based on functionalized optical fibers

Arvizu Moya Fernanda Naian¹, Zarazúa Sánchez Dulce María², Margaro Cruz María de Fatima¹, Martínez García Juan Carlos³, Gudiño Ramírez Perla Jazmín³, Hernández Arredondo Bruno⁴, Mejía Benavides Jorge Emmanuel⁴, Díaz-Cervantez Erik^{3*}

¹Departamento de Ciencias Ambientales, División de Ciencias de la Vida, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato.

² Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato.

³ Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato.

⁴ Departamento de Enfermería y Obstetricia, División de Ciencias de la Vida, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato.

e.diaz@ugto.mx^{3*}

Resumen

Actualmente el uso de fibras ópticas (OF) como sensores es de gran ayuda para detectar parámetros bioquímicos. En el presente trabajo se aborda el modelado computacional de OF funcionalizadas con materiales poliméricos y su afinidad a *Fusarium oxysporum*, utilizando métodos basados en química computacional. El hongo *Fusarium oxysporum* es una especie patógena capaz de infectar a una amplia gama de cultivos, se realizó el acoplamiento molecular de la proteína cutinasa presente en *F. oxysporum*, dicho acoplamiento se realizó con distintos ligandos siendo PVA, con una eficiencia del ligando de -5.91 kcal/mol, Dicho resultado muestra un plano experimental para proponer sensores basados en OF funcionalizadas capaces de detectar fitopatógenos.

Palabras clave: Fibra óptica, cutinasa, *Fusarium oxysporum*, docking

Introducción

Fusarium oxysporum es un complejo de especies que abarca una variedad de cepas presentes de forma ubicua en todo tipo de suelo (de Lamo & Takken, 2020). Este hongo se considera un constituyente normal de las comunidades fúngicas en la rizosfera de las plantas, ya que todas las cepas de *F. oxysporum* son saprofitas y capaces de crecer y sobrevivir durante largos periodos de tiempo en la materia orgánica del suelo y en la rizosfera de diversas especies de plantas, sin embargo, algunas cepas de *F. oxysporum* son patógenas para diferentes especies de plantas al penetrar las raíces mediante la inducción de podredumbres radiculares o traqueomicosis cuando el hongo invade el sistema vascular. Cabe mencionar que algunas otras cepas pueden penetrar las raíces, pero no invaden el sistema vascular ni causan enfermedades (Fravel et al., 2003). Algunas cepas de *F. oxysporum*, como Fo47 y CS-20, son muy beneficiosas para el huésped y pueden proporcionar protección contra patógenos de la raíz (de Lamo & Takken, 2020).

El marchitamiento es una de las principales enfermedades causadas por cepas patógenas de *Fusarium*, además es una de las amenazas más importantes dentro de las actividades agrícolas afectando el rendimiento de los cultivos y generando pérdidas económicas importantes. Junto con el marchitamiento, las cepas patógenas de *Fusarium* también pueden causar podredumbre del pie o de la raíz en las plantas. La aparición de cepas patógenas específicas del huésped puede ser por el uso extensivo de monocultivos con rotación de cultivos limitada que pueden servir como caldo de cultivo para los patógenos (de Lamo & Takken, 2020).

El contacto con la raíz de una planta produce una ramificación de las hifas para formar una red micelial. *F. oxysporum* produce hinchazones de hifas en el sitio de infección, denominados apresorios. La penetración de la pared de la célula huésped ocurre a través de una pequeña abertura, probablemente con ayuda de enzimas degradativas. Mediante este proceso el hongo entra en la raíz a través de la penetración directa de las células epidérmicas, sin embargo, también puede penetrar mediante el crecimiento de las células. En este punto inicia la colonización a la corteza de la raíz (Gordon, 2017).

La cutinasa es una enzima excretada por hongos fitopatógenos, como *Fusarium oxysporum*, es responsable del proceso de hidrólisis in vivo de la cutina, biopolímero que se encarga de recubrir y proteger a las plantas de microorganismos patógenos. La cutinasa ha mostrado propiedades interesantes para su aplicación en procesos industriales, por ejemplo, se han desarrollado una preparación enzimática que contiene cutinasa para aumentar el efecto farmacológico de productos químicos agrícolas. La cepa de *F. oxysporum* ha resultado ser la mejor productora de la enzima cutinasa (Pio & Macedo, 2007).

La detección rápida y precisa de analitos en pequeñas concentraciones (proteínas, ADN, marcadores patológicos, toxinas, etc.) es crucial en campos como la medicina, la monitorización medioambiental o el control de calidad en la industria alimentaria. En este sentido, el uso de dispositivos de fibra óptica como sensores presenta características que los convierte en una solución rápida que contribuye a la reducción de gastos y proporciona factores de facilidad de uso (Caucheteur et al., 2015).

Las fibras ópticas constan de un núcleo cilíndrico y un revestimiento circundante, ambos hechos de sílice. El núcleo generalmente se dopa de germanio para que su índice de refracción sea ligeramente superior al índice de refracción del revestimiento, lo que da como resultado la propagación de la luz por reflexión interna total (TIR) (Leung et al., 2007). Esto provoca que la interfaz entre ambas regiones produzca una reflexión total del rayo luminoso, lo que permite su confinamiento en el núcleo de la fibra (Alustiza et al., 2022).

Un sistema de detección de fibra óptica se compone de una fuente de luz, fibra óptica, un elemento sensor y un detector. Las fibras ópticas aprovechan sus características únicas, como la susceptibilidad a los efectos ambientales lineales y no lineales para permitir la detección distribuida (Chong et al., 2013).

Los sensores de fibra óptica se pueden insertar en medios a detectar ya sea como una sonda manual o como un conjunto de dispositivos operados de forma remota a lo largo de un cable de fibra óptica. Si bien la detección basada en fibra óptica no es competitiva con la instrumentación de laboratorio óptica a granel en aplicaciones como la investigación farmacéutica, parece haber aplicaciones en las que el bajo costo potencial y la facilidad de uso de los sensores de fibra podría conducir a una implementación generalizada, como la detección de infecciones virales o bacterianas, la verificación de toxinas específicas en el procesamiento de alimentos o el monitoreo de la calidad del agua (Caucheteur et al., 2015).

El acoplamiento molecular se ha convertido en una herramienta esencial para los biólogos estructurales y lo químicos medicinales. Dado un compuesto químico (ligando) y la estructura tridimensional de un objetivo molecular (blanco), por ejemplo, una proteína, los métodos de acoplamiento ajustan el compuesto al objetivo, prediciendo la estructura de unión y la energía de enlace del compuesto (Rosenfeld et al., 1995).

Metodología

Para predecir la interacción entre el ligando (OF, pesticidas) y el blanco (proteína, nanopartículas) se trabajó mediante el método de acoplamiento molecular *in silico* (*Docking molecular*).

El blanco seleccionado fue la proteína cutinasa referente a *F. oxysporum* la cual se tomó de la base de datos Protein Data Bank (PDB), con código 5AJH (Dimarogona, et. al. 2015). La modelación de los ligandos se realizó por medio del software Avogadro (Hanwell, et al. 2012). Los acoplamientos moleculares se realizaron a través del software *Molegro Virtual Docker* (MVD) (Thomsen y Christensen, 2006) empleando la evaluación MoldockScore (Yang y Chen, 2004).

La mejor pose fue elegida de acuerdo con su energía de unión, entre más negativo el valor de la energía, mejor interacción. Específicamente consideramos como parámetro la eficiencia del ligando, que se define como la energía aportada por cada átomo a la interacción blanco-ligando.

Resultados

De acuerdo con el análisis de las interacciones ligando-blanco, se determinó que el PVA es el más efectivo para la interacción con la proteína de *F. oxysporum*. En la figura 1 se muestra dicha interacción entre la proteína cutinasa.

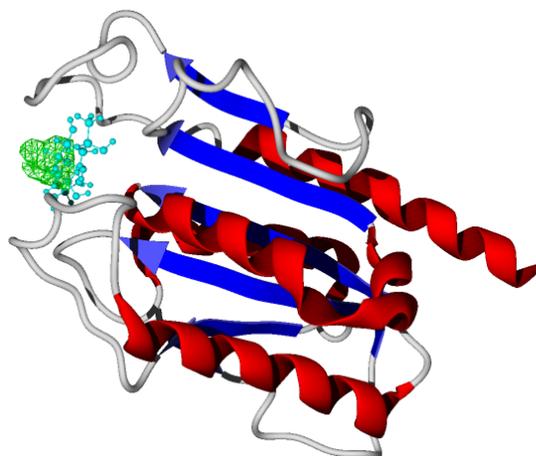


Figura 1. Acoplamiento molecular entre PVA y proteína quitinasa .

En cuanto a los resultados energéticos se muestran en la tabla 1. En la que se observa que el PVA presenta la menor eficiencia de ligando (LE) de -5.91 kcal/mol, lo que confirma que esta interacción es la más efectiva.

Tabla 1. Valores de acoplamiento molecular ligando-blanco

Molécula	E (kcal/mol)	LE (kcal/mol)
Fibra-APTES-alginato	624.15	4.66
APTES	-86.25	-5.75
Alginato	-57.06	-2.28
PVA	-94.49	-5.91

Adicionalmente se modelaron un conjunto de moléculas de interés en industria agro-alimentaria (Tabla 2), con el fin de reforzar los conocimientos en modelación computacional.

Tabla 2. Valores del acoplamiento de moléculas propuestas.

Blanco	Molécula	E (kcal/mol)	LE (kcal/mol)
	OF	618.893	4.6186
<i>Salmonella entérica typhimurium</i>	APTES-alginato	-158.456	-3.96139
	Alginato	-64.3466	-2.57387
	APTES	-121.891	-8.12608
Oxido de grafeno	Captopril	-80.63	-5.42
	Carbamato	-113.43	-6.80

	Glifosato	-72.85	-7.30
	Piretrina	-141.23	-6.15
	Ácido Galico	-72.82	-6.06
<i>Leucil-ARNt sintetasa</i>	Catequina	-108.71	-5.17
	Trimetoprima-Sulfametoxazol	-104.70	-4.98
	APTES	-74.4362	-4.96241
<i>Ophiostoma novo-ulmi subs</i>	Alginato-APTES	-125.653	-3.14133
	Alginato	-50.1579	-2.00632
	OF	594.026	4.43303
	Carvacrol	-63.157	-5.741
Mpro proteasa de Sars-CoV2	7a hibrido	-159.629	-5.149
	Carvacrol y óxido de hierro	-70.415	-6.401

Con referencia a la detección de la proteína de *Salmonella typhimurium* y de *Ophiostoma novo-ulmi* el APTES es mejor ligando debido a que presenta una mayor afinidad por el sitio activo de la proteína, energía de -121.891 kcal/mol y eficiencia del ligando de -8.12608 kcal/mol para *Salmonella typhimurium* y una energía de -74.4362 kcal/mol y eficiencia de ligando de -4.96241 kcal/mol para *Ophiostoma novo-ulmi*.

Para el caso de *Leucil-ARNt sintetasa* se observa que el mejor resultado está dado por el ácido gálico (-6.06 kcal/mol).

Respecto a los resultados obtenidos con el uso de nanopartículas como el óxido de grafeno y óxido de hierro, en el primer caso el Glifosato presenta una mejor eficiencia de ligando (-7.30 kcal/mol) en comparación con los demás compuestos y para el Mpro proteasa de Sars-CoV2 la interacción del carvacrol con el óxido de hierro resultó ser la más viable con una eficiencia de ligando de -6.401 kcal/mol.

Dados estos resultados, se sugiere considerar la construcción de sensores para la detección de dichas moléculas.

Conclusión

Los resultados obtenidos, que demuestran la efectividad de los ligandos en la interacción con la proteína cutinasa de *F. oxysporum*, subrayan la importancia de continuar desarrollando esta línea de investigación. La metodología de acoplamiento molecular *in silico* utilizada para modelar estas interacciones no solo proporciona una base sólida para la optimización de biosensores, sino que también abre la puerta a la exploración de otros patógenos agrícolas y enfermedades de plantas.

Además, la funcionalización de fibras ópticas puede extenderse a otros campos, como la detección de contaminantes en alimentos y agua, el monitoreo de la salud ambiental y el desarrollo de dispositivos médicos para la detección de biomarcadores en enfermedades humanas. La versatilidad de esta tecnología sugiere que, con más investigación y desarrollo, los biosensores basados en fibras ópticas podrían convertirse en herramientas esenciales en la lucha contra diversas amenazas biológicas y ambientales.

Por lo tanto, es imperante que se invierta en la investigación y el desarrollo de biosensores avanzados, no solo para mejorar la detección de *F. oxysporum*, sino también para explorar su potencial en aplicaciones más

amplias que beneficien tanto a la agricultura como a la salud pública. La colaboración interdisciplinaria entre distintos enfoques académicos será fundamental para el desarrollo de futuras investigaciones

Bibliografía/Referencias

1. Alustiza, D. H., López, A., & Mineo, M. (2022). Introducción a los sensores de fibra óptica para el monitoreo de salud de estructuras civiles. *Ingenio Tecnológico*, 4, 1–26. <http://portal.amelica.org/ameli/journal/266/2663014002/>
2. Caucheteur, C., Guo, T., & Albert, J. (2015). Review of plasmonic fiber optic biochemical sensors: improving the limit of detection. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (Vol. 407, Issue 14, pp. 3883–3897). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8411-6>
3. Chong, S. S., Abdul Aziz, A. R., & Harun, S. W. (2013). Fibre optic sensors for selected wastewater characteristics. *Sensors (Switzerland)*, 13(7), 8640–8668. <https://doi.org/10.3390/s130708640>
4. de Lamo, F. J., & Takken, F. L. W. (2020). Biocontrol by *Fusarium oxysporum* Using Endophyte-Mediated Resistance. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00037>
5. Dimarogona, M., Nikolaivits, E., Kanelli, M., Christakopoulos, P., Sandgren, M., y Topakas, E. (2015). Structural and functional studies of a *Fusarium oxysporum* cutinase with polyethylene terephthalate modification potential. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1850, no. 11, pp. 2308–2317. doi: 10.1016/J.BBAGEN.2015.08.009.
6. Fravel, D., Olivain, C., & Alabouvette, C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. In *New Phytologist* (Vol. 157, Issue 3, pp. 493–502). <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00700.x>
7. Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* Wilt Syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 23–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615>
8. Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., y Hutchison, G. R. (2012). SOFTWARE Open Access Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *J Cheminform.* doi: <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
9. Leung, A., Shankar, P. M., & Mutharasan, R. (2007). A review of fiber-optic biosensors. In *Sensors and Actuators, B: Chemical* (Vol. 125, Issue 2, pp. 688–703). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.03.010>
10. Pio, T. F., & Macedo, G. A. (2007). Optimizing the production of cutinase by *Fusarium oxysporum* using response surface methodology. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(5), 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.05.008>
11. Rosenfeld, R., Vajda, S., & Delisi, C. (1995). FLEXIBLE DOCKING AND DESIGN. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 24, 677–700. www.annualreviews.org
12. Thomsen, R., y Christensen, M.H. (2006). MolDock: A new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 49, no. 11, pp. 3315–3321. doi: 10.1021/JM051197E/SUPPL_FILE/JM051197ESI20060314_081922.PDF.
13. Yang, J.M., y Chen, C.C. (2004). GEMDOCK: A Generic Evolutionary Method for Molecular Docking. *Proteins*, 55(2), 288-304. doi: 10.1002/prot.20035.