

Peptidos antimicrobianos como alternativa al uso de fungicidas químicos

Diego Alem, Matías Maidana, Marco Dalla Rizza
 Unidad Biotecnología, INIA Las Brujas.

Las pérdidas en cultivos y postcosecha debido a patógenos vegetales en la agricultura, y considerando los inconvenientes en el tratamiento de enfermedades causados por microorganismos, son causa de preocupación tanto a nivel agrícola como de salud. La mayoría de los métodos de control de enfermedades en la agricultura están basados en el uso de productos de síntesis que son costo-efectivos, formulados con estrictos estándares de producción pero muchas veces inespecíficos, generan problemas de resistencia en los microorganismos que se desea controlar, poco amigables con el medio ambiente y la salud. La investigación de enfoques alternativos para su control en ambos campos de aplicación, es creciente y necesario. Esto ha llevado a la búsqueda de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana con posibilidades de desarrollos biotecnológicos. Es deseable que los compuestos de control posean ciertas características: que sean más activos (eficaces a dosis más bajas que las actuales), que presenten mayor especificidad (que no afecten a otros organismos no blanco), que no generen resistencia y sean biodegradables.

Los Péptidos Antimicrobianos (PAMs) forman parte de los mecanismos de defensa conservados a lo largo de la evolución y están presentes en organismos de muy distinta escala filogenética, desde procariotas hasta animales y plantas superiores. Son un grupo amplio de moléculas que contienen generalmente de 15 a 50 residuos de aminoácidos, en su gran mayoría son catiónicos a pH fisiológico (debido a la presencia de residuos de arginina y lisina) y anfipáticos. Pueden presentar actividad antimicrobiana frente a diversos patógenos como bacterias gram positivas y gram negativas, micobacterias, hongos, levaduras, protozoos, virus e incluso células tumorales (Broekaert et al., 1997, Zasloff, 2002; Brogden, 2005; Hancock and Sahl, 2006).

En esta línea de investigación, una actividad es la búsqueda de nuevos PAMs, focalizado en la búsqueda de extractos activos a partir de semillas, la purificación mediante diversas técnicas cromatográficas y la posterior caracterización.

Una vez identificado una biomolécula con características para ser aplicada en cadena agroalimentaria se evalúan sistemas de escalado como la expresión heteróloga en distintos sistemas de expresión como ser microorganismos (*E. coli*, *P. pastoris*) o en plantas (granjas moleculares) y la optimización del proceso (Figura 1).

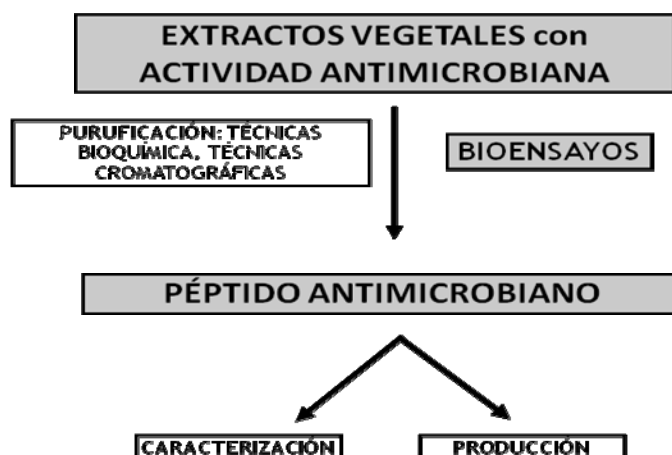


Figura 1. Esquema de trabajo.

En la Tabla 1, se presentan resultados preliminares para el péptido recombinante de *Amaranthus quitensis*, unido a una proteína de fusión (AqAMP-Trx). Se observa una buena actividad frente a tres hongos fitopatógenos medido a través de mínima concentración inhibitoria (MIC) y mínima concentraciones fungicida (MFC) expresada en uM, así como una gran estabilidad frente a variables fisicoquímicas y enzimas proteolíticas, lo que lo hace un buen candidato a emplear en pruebas de ensayo *in vivo*.

A) <i>F. oxysporum</i>		<i>P. digitatum</i>		<i>A. Niger</i>	
MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
4	NF	4	NF	4	8

B)				
pH 3	-	Tratamiento térmico (100°C, 60 minutos)		+
pH 5	+	Tratamiento con enzimas proteolíticas		
pH 7	+	Proteinasa K, 60 minutos		+
pH 9	+	Pronase E, 60 minutos		+
pH 11	+	Tripsina, 60 minutos		+

Tabla 1. Resultados parciales para el péptido recombinante de AqAMP-Trx. A) Actividad frente a tres hongos fitopatógenos; NF, no fungicida. B) Estudios de actividad fisicoquímica y enzimas proteolíticas; + activo; - sin actividad.