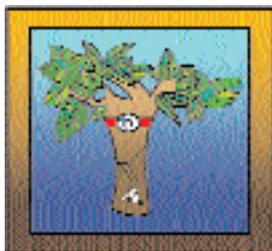


# Proteínas contra las infecciones de las plantas



Hoy es posible reducir las pérdidas que anualmente ocasionan algunos organismos patógenos en plantas de interés agronómico, mediante proteínas que funcionan como inhibidores de hongos y bacterias dañinas.

**Ignacio R. Islas Flores,  
Yereni Minero García y Andrew C. James**

## INTRODUCCIÓN

A través de la evolución los organismos han desarrollado mecanismos para defenderse activamente del ataque de los patógenos. El más sofisticado de estos mecanismos es el *sistema inmunitario*, que produce anticuerpos y células asesinas que reconocen y eliminan a los invasores o a células específicas. Estas reacciones inmunitarias se activan en respuesta a moléculas defectuosas o extrañas que invaden a los organismos multicelulares. En contraste, la *inmunidad innata* es una estrategia de defensa mucho más antigua y más ampliamente distribuida, e involucra entre otras respuestas la producción de péptidos (proteínas pequeñas) antibacterianos y antifúngicos (que matan, respectivamente, a bacterias y hongos). Se sabe

que los péptidos antifúngicos y antibacterianos juegan un papel importante en los mecanismos que se encargan de eliminar o evitar el crecimiento de organismos patógenos, tanto en el interior como en el exterior de los organismos. Dado el aumento en la resistencia que han adquirido muchos de los hongos patógenos a las sustancias químicas que se han utilizado para combatirlos, estos péptidos resultan una alternativa atractiva para controlar a dichos microorganismos.

La mayoría de las plantas presentan cierto grado de protección o resistencia contra el ataque de patógenos. Dicha protección puede clasificarse como de tipo inespecífica (pasiva) o específica (activa). El primer tipo de resistencia se refiere a las barreras físicas, como ceras cuticulares, paredes celulares robustas, epidermis cubiertas de glándulas secretoras de resinas o compuestos antimicrobianos. La resistencia específica, en cambio, comprende los mecanismos bioquímicos y moleculares que se activan en respuesta a la infección, e involucra células especializadas que producen, transportan y secretan diferentes compuestos químicos, péptidos o proteínas antifúngicas o antibacterianas.

Al momento se están identificando y aislando un número creciente de péptidos biocidas a partir de plántulas y semillas. Las semillas de dicotiledóneas y de monocotiledóneas como el maíz contienen una gran variedad de proteínas, cuya función principal parece ser la de reserva de nitrógeno para el inicio de la germinación y el crecimiento. Sin embargo, también se ha visto que las semillas contienen otra clase de proteínas, cuya función no se conoce con certeza; se piensa que se relacionan con la defensa contra depredadores y patógenos. Estas proteínas incluyen una variedad de inhibidores enzimáticos, lectinas y enzimas hidrolíticas, como quitinasas y glucanasas. Además, en las semillas de monocotiledóneas como trigo, cebada, arroz, avena y sorgo, se ha identificado una familia de péptidos pequeños de tipo básico, llamados *tioninas*, las cuales en ensayos *in vitro* inhiben el crecimiento de algunos hongos fitopatógenos y también el crecimiento de algunas bacterias.

En pruebas agronómicas, varios ensayos han mostrado que, en plantas transgénicas que sobreexpresan tioninas, defensinas o las llamadas proteínas de transferencia de lípidos, éstas moléculas presentan acción *in vivo*, pues dichas plantas incrementan su resistencia a diversos patógenos. Asimismo, algunos péptidos antifúngicos están siendo utilizados en el sector salud para combatir infecciones en el ser humano. En este texto nos concentraremos en resaltar el potencial de estos péptidos para mejorar la resistencia de plantas de interés agronómico, factor que de lograrse permitiría reducir las pérdidas que anualmente ocasionan algunos organismos patógenos. Esto permitiría incrementar la cantidad de alimentos disponibles y que son requeridos por una población que crece de forma exponencial.

#### CLASES DE PÉPTIDOS O PROTEÍNAS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA O ANTIBACTERIANA

Entre los péptidos y proteínas vegetales de tipo antifúngico, se han aislado glucanasas, quitinasas, proteínas tipo taumatina y varios tipos de péptidos básicos ricos en cisteína. El último grupo incluye a las tioninas, las proteínas de transferencia de lípido, las defensinas y otros péptidos de bajo peso molecular menos conocidos. Dichos pépti-

dos pueden inhibir a una amplia variedad de hongos fitopatógenos (causantes de enfermedades en plantas), aunque con diferente fuerza.

Las tioninas fueron la primera clase de péptidos aislados de plantas, y muestran toxicidad sobre el crecimiento de bacterias, tanto de tipo gram-negativo como gram-positivo, y también inhiben el crecimiento de hongos. Las tioninas son polipéptidos ricos en cisteína y lisina, con una longitud de 43 a 46 aminoácidos. La familia de las tioninas presenta una alta conservación en la posición de los residuos de cisteína.

Las defensinas vegetales también son péptidos pequeños altamente básicos, ricos en cisteína, y están constituidos por un número variable de aminoácidos (45 a 54). Estos péptidos muestran una elevada capacidad para inhibir el crecimiento de hongos, ya sea a través de la deformación de las hifas (los filamentos que forman a los hongos) o de un mecanismo que parece requerir de la participación de receptores específicos localizados en la membrana de las hifas



de los hongos. Este tipo de péptidos están presentes en todo el reino vegetal; los primeros representantes de esta familia fueron aislados de granos de trigo y cebada. Todas las defensinas vegetales que han sido identificadas hasta el momento poseen ocho cisteínas que forman cuatro puentes disulfuro que estabilizan su estructura tridimensional. El arreglo estructural de las defensinas vegetales es similar al de las defensinas de los invertebrados, y difiere notoriamente de la estructura de las defensinas de mamíferos, en los que se han descrito tres tipos diferentes, las  $\theta$  defensinas, las  $\alpha$  y las  $\beta$  defensinas.

Las proteínas de transferencia de lípidos han sido descritas principalmente en monocotiledóneas, aunque también se han encontrado en algunas dicotiledóneas. Su función ha sido motivo de controversia, dado que existen

evidencias de que estas proteínas llevan a cabo más de una función *in vivo*. Las proteínas de transferencia de lípidos vegetales tienen una masa molecular de entre 9 y 10 kilodaltons, y originalmente se creyó que participaban en la transferencia de lípidos entre organelos, debido a su habilidad *in vitro* para transferir lípidos entre membranas. No obstante, actualmente existe un gran número de reportes que indican que algunas proteínas de transferencia de lípidos están involucradas en los mecanismos de defensa de las plantas, dada su habilidad para inhibir *in vitro* el crecimiento de hongos y bacterias. Algunos estudios sugieren que estas proteínas también poseen actividad antibacteriana *in vivo*, dado que cuando son sobreexpresadas en plantas transgénicas, éstas presentan mayor resistencia a la infección por bacterias. Por ejemplo, la sobreexpresión de la proteína de transferencia de lípidos PTL2 en tabaco y *Arabidopsis* incrementa en ambas la resistencia a la infección por *Pseudomonas syringae*. Ésta y otras evidencias apoyan fuertemente el hecho de que algunas proteínas de transferencia de lípidos actúan como un mecanismo de defensa en los vegetales.

Las proteínas tipo taumatina se han aislado a partir de varias especies de plantas. Se sabe que algunas proteínas tipo taumatina inhiben el crecimiento y la germinación de las esporas de los hongos. Por ejemplo, en plantas de papa se demostró que la sobreexpresión constitutiva de una proteína tipo taumatina reduce la invasión por hongos. Cierta clase de proteínas tipo taumatina ocasionan una rápida permeabilización de la membrana plasmática de los hongos, y en algunos casos las proteínas tipo taumatina presentan una alta especificidad contra ciertos hongos.

En plantas de papa se demostró que la sobreexpresión constitutiva de una proteína tipo taumatina reduce la invasión por hongos

#### DISTRIBUCIÓN DE LOS PÉPTIDOS ANTIFÚNGICOS Y SÍNTESIS QUÍMICA

Los péptidos antifúngicos tienen una amplia distribución en los diferentes reinos. Se han encontrado en plantas, insectos, anfibios y mamíferos. Los péptidos naturales se componen todos de D-aminoácidos, en lugar de L-aminoácidos, como la mayoría de las proteínas en la naturaleza, y típicamente retienen toda su actividad antifúngica y exhiben cierta resistencia a la acción de proteasas.

Actualmente se están produciendo análogos de tipo semi-sintético o totalmente sintéticos, que pueden presentar mayor actividad antifúngica que sus análogos naturales. Con respecto a la diversidad de los péptidos sintéticos, todos los péptidos activos están compuestos de aminoácidos hidrofílicos, hidrofó-

bicos y catiónicos, de manera que se disponen en un arreglo molecular que forma una estructura anfipática (con partes que pueden interactuar con disolventes acuosos o grasosos).

### PÉPTIDOS ANTIFÚNGICOS O ANTIBACTERIANOS AISLADOS A PARTIR DE PLANTAS

Los péptidos antifúngicos o antibacterianos han sido aislados a partir de semillas, plántulas y otros tejidos vegetativos de plantas. En el cuadro 1 se presentan algunos ejemplos de proteínas o péptidos que han sido aislados a partir de fuentes vegetales.

### CONSERVACIÓN DE LOS PÉPTIDOS ANTIFÚNGICOS O ANTIBACTERIANOS EN LAS DIFERENTES ESPECIES VEGETALES

En las bases públicas de datos de proteínas como Genbank existen varios registros que corresponden a péptidos con actividad antifúngica o antibacteriana. En la figura 2 se presenta el alineamiento de algunos péptidos, con el objetivo de mostrar que el grado de conservación entre los aminoácidos es bastante bajo y que se reduce a la posición de las cisteínas.

#### CUADRO 1.

Péptidos o proteínas con actividad biocida, aislados a partir de vegetales

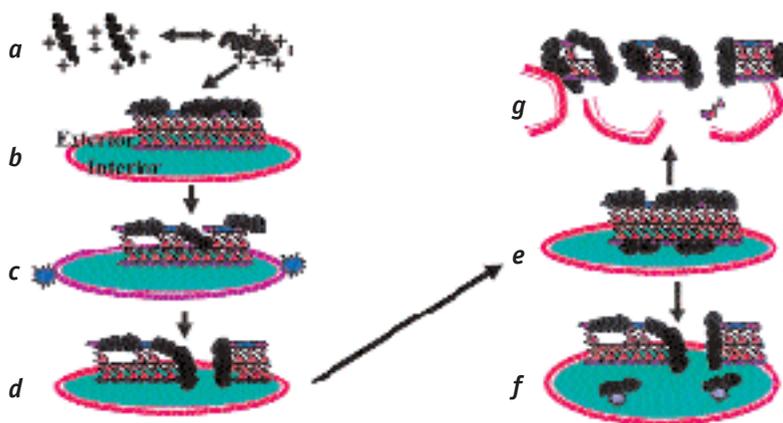
Especie	Tejido	Nombre	Referencia
<i>Helianthus annuus</i>	Semillas	Ha-AP10	Regente y Canal (2000), <i>Physiol plant.</i> 110: 158-163.
<i>Dahlia merckii</i>		DmAMP1	Thevissen y Col. (2000), <i>Proc. Nat. Acad. Sci.</i> 97: 9531-9536.
<i>Castanea sativa</i>	Semillas	CsTL1	García-Casado y cols. (2000), <i>Physiol. Plant.</i> 110: 172-180.
<i>Zea mays</i>	Endospermo	MBP-1	Duvick y cols. (1992), <i>J. Biol. Chem.</i> 267: 18814-18820.
<i>Mirabilis jalapa</i>	Semillas	Mj-AMP1 Mj-AMP2	Cammue y cols. (1992), <i>J. Biol. Chem.</i> 267: 2228-2233.
<i>Solanum tuberosum</i>	Tubérculo	Snakin 2	Berrocal -Lobo y cols. (2002), <i>Plant Physiol.</i> 128: 951-961.
<i>Ricinus communis</i>		RAT	Sang-Wook y cols. (2002), <i>Planta</i> 216: 227-234.
<i>Saponaria officinalis</i>		Saporina S-6	Sang-Wook y cols. (2002), <i>Planta</i> 216: 227-234.
<i>Macadamia integrifolia</i>	Semillas y endospermo	MiAMP2c MiAMP2a,b,d	Marcus y cols. (1999), <i>Plant Jour.</i> 19: 699-710.
<i>Castanea sativa</i>	Semillas	CsTL1	García-Casado y cols. (2000), <i>Physiol. Plant.</i> 110: 172-180
<i>Heuchera sanguinea</i>	Semillas	Hs-AFP1	Thevissen y cols. (1997), <i>J. Biol. Chem.</i> 272: 32176-32181.
<i>Medicago sativa</i>	Semillas	AjAFP	Ai-Guo y cols. (2000), <i>Nat. Biotechnol.</i> 18: 1307-1311.
<i>Impatiens balsamiana</i>	Semillas	Ib-AMP1, Ib-AMP2 Ib-AMP3 Ib-AMP4	Ravi y cols. (1997), <i>J. Biol. Chem.</i> 272: 24480-24487.

	1	10	20	30	40	50	60
MirJa	MAKVPIAFLK	FVIVLILFIA	MSGMIEACIG	NGGRCNENVG	PPY <b>CC</b> SGFCL	RQPNQGYGVC	
Cap ann	MAGFSKVVAT	IFLMLLVFA	TDMM.AEAKI <b>C</b>	EALSGNFKGL	<b>CL</b> SSRDCGN	V <b>CR</b> REGF	
Atha	MASS YTLMLF	LCLS IFLIAS	TEMMAVEGR <b>I</b> C	ERRSKTWTGF	<b>CGN</b>	TRGCD <b>SQ</b> CKR	WE
Pic ab	MADKGVGSRL	SAM MQLEP	AEGRT <b>C</b>	KTPS	G <b>V</b> CASR	NNCKNV <b>CQ</b>	
Pi sat	KTCENLS	GTFKGPCIPDG	NC NKH <b>C</b>	RNNEHL	LSGR <b>CR</b> DDF	CWCTNR <b>CTE</b>	
Horvul		RICRRRS	AGFG <b>P</b> C	VSN KNCA	Q <b>V</b> CMQEGWGG	G <b>NC</b> DGPL	

**Figura 1.** Alineamiento de aminoácidos de algunos péptidos con actividad antifúngica o antibacteriana. Los péptidos proceden de *Mirabilis jalapa* (Mirja), *Pisum sativum* (Pi sat), *Picea abies* (Pic ab), *Capsicum annuum* (Cap ann), *Arabidopsis thaliana* (Atha) y *Hordeum vulgare* (Horvul). Las letras engrosadas y en itálicas muestran algunas de las cisteínas conservadas.

### ESTRUCTURA DE LOS PÉPTIDOS ANTIFÚNGICOS O ANTIBACTERIANOS VEGETALES

La diversidad en las secuencias de aminoácidos de los péptidos antifúngicos o antibacterianos es tan alta que resulta infrecuente encontrar secuencias similares entre diferentes especies. Por esta razón, las clasificaciones actuales son bastante heterogéneas y se realizan principalmente con base en la estructura secundaria de los péptidos.



**Figura 2.** Propuesta del modelo Shai-Matsuzaki-Huang para explicar el mecanismo de acción de un péptido biocida. Péptidos cargados positivamente (a) interactúan con la cara exterior de la bicapa lipídica, formando una cubierta en forma de carpeta (b). Los péptidos se integran a la cara exterior de la bicapa lipídica (c) e inician el adelgazamiento de la cara interior de la bicapa lipídica hasta formar poros transitorios (d). Una vez que ocurre la formación de poros en la membrana, las células se colapsan (g). Otra posibilidad es que después de que los péptidos interactúan con la membrana (b-c), ocurra transporte de lípidos y péptidos hacia la lámina interna de la bicapa lipídica (e); una vez en el interior de las células, los péptidos se dirigen hacia los blancos intracelulares (f). Esquema modificado a partir de Zasloff M. (2002), *Nature* 415: 389-395.

En el caso particular de las defensinas vegetales, se ha intentado clasificarlas con base en su composición de aminoácidos. Harrison y colaboradores (1997) alinearon las secuencias de aminoácidos de 17 defensinas vegetales y encontraron que compartían entre sí el 25 por ciento de identidad, la cual se relaciona principalmente con la conservación de ocho cisteínas, las cuales son estructuralmente importantes. Posteriormente, con base en un alineamiento con aproximadamente 80 secuencias de defensinas vegetales y su análisis por medio del algoritmo *Clustal W*, se construyó un árbol de la filogenia molecular, deduciéndose que solamente unas pocas proteínas podían formar grupos discretos. En conclusión, el análisis mediante filogenia molecular no fue esclarecedor, debido a que las secuencias son pequeñas y comparten solamente unos pocos residuos conservados. Además, a lo largo de la evolución se han acumulado múltiples sustituciones, por lo que no hay un patrón de agrupamiento, incluso entre las defensinas identificadas en una sola especie. Un ejemplo contrario, pero aislado, lo constituyen las defensinas de rábano, las cuales están estrechamente agrupadas; esto sugiere una diversificación reciente. Por el contrario, las defensinas de *Arabidopsis* están dispersas por todo el árbol filogenético.

#### MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PÉPTIDOS ANTIFÚNGICOS O ANTIBACTERIANOS

El mecanismo de acción de estos biocidas vegetales, así como los componentes moleculares involucrados en su reconocimiento y señalización, aún se están identificando. No obstante, se sabe que dichos péptidos ejercen al menos una parte de su acción gracias a una diferencia fundamental de diseño y composición entre las membranas de los microorganismos y la de los organismos pluricelulares. Las membranas bacterianas están organizadas de forma que la capa externa de la bicapa lipídica contiene una alta densidad de fosfolípidos cargados negativamente; en contraste, la capa externa de la bicapa lipídica de las membranas de plantas y animales está compuesta principalmente de lípidos sin carga neta, y muchos de los lípidos cargados negativamente están ubicados en la capa interna.

Para explicar el mecanismo de acción de los péptidos biocidas se han sugerido varios modelos; están los que proponen la despolarización de la membrana bacteriana (la cual normalmente está energizada), la creación de huecos en la membrana (lo cual lleva a la salida del contenido celular) y por último se ha propuesto que los péptidos entran a la célula, donde actúan sobre blancos intracelulares críticos para la supervivencia de la célula.

La hipótesis de la despolarización de la membrana se basa en que los péptidos exhiben carga eléctrica a pH fisiológico, comportándose como cationes. En este modelo se postula que dichos péptidos actúan formando poros en la membrana de hongos y bacterias. Se propone que una vez que los péptidos cargados positivamente entran, interactúan con los fosfolípidos (cargados negativamente) de las membranas de los patógenos. De esta forma los péptidos se insertan en la membrana celular del patógeno y forman estructuras parecidas a canales iónicos, que permiten la salida de los iones celulares (figura 2).

El segundo modelo postula que los péptidos actúan permeabilizando la membrana celular de los patógenos. Se cree que esto ocurre cuando los péptidos se unen de manera individual a las cabezas aniónicas de los lípidos de la membrana, produciendo arreglos parecidos a “carpetas” o “manchas” de péptidos. La neutralización de las cabezas aniónicas lipídicas rompe la integridad de la bicapa en las células del patógeno, ocasionando la formación transitoria de huecos que permiten que iones y macromoléculas salgan de las células del patógeno.

En este modelo  
—despolarización de  
la membrana bacteriana—  
se postula que dichos  
péptidos actúan  
formando poros  
en la membrana de hongos  
y bacterias

Recientemente se ha empezado a manejar una tercera posibilidad (modelo Shai-Matsuzaki-Huang) para explicar el mecanismo de acción de los péptidos biocidas. Postula que los péptidos catiónicos ejercen su acción no sólo a través de la permeabilización de la membrana plasmática de los patógenos, sino que también penetran al interior de las células del patógeno, donde actúan sobre moléculas o estructuras blanco. En este modelo (figura 2) se propone que la capacidad de los péptidos para permeabilizar las células del patógeno sólo sirve para generar un espacio que les permite alcanzar sus blancos intracelulares, donde inhiben por ejemplo la síntesis de proteínas, ADN y ARN.

En la mariposa productora de seda *Hyalophora cecropia* se aisló un péptido catiónico de tipo cecropina-melitina, el cual mostró un amplio espectro de actividad contra fitopatógenos

Sin embargo, las evidencias experimentales que apoyan este modelo sólo han sido descritas para péptidos que están presentes en células de insectos.

Se ha sugerido que los péptidos vegetales no interactúan directamente con los fosfolípidos de la membrana plasmática. Por ejemplo, se ha observado que las defensinas Dm-AMP1 de *Dahlia merckii*, y Rs-AFP2 de *Raphanus sativus* inducen una serie de respuestas relativamente rápidas, ocasionando un aumento en la salida de potasio y un incremento en la entrada de calcio. Una variante de Rs-AFP2, que exhibe mayor actividad antifúngica, provoca mayor entrada de calcio que la RS-AFP2 nativa. En contraste, otra variante de RsAFP2 que no exhibe actividad antifúngica no es capaz de inducir ningún cambio en el nivel de entrada de calcio en las células de los hongos, lo que apoya este modelo.

#### USO DE PÉPTIDOS ANTIFÚNGICOS O ANTIBACTERIANOS PARA INCREMENTAR LA RESISTENCIA A FITOPATÓGENOS

En varios trabajos se ha reportado que la expresión de péptidos con actividad antifúngica o antibacteriana en plantas, independientemente de su origen, permite que éstas presenten mayor resistencia a la invasión por patógenos. Debido al potencial que presentan estos péptidos, varios grupos están explorando la posibilidad de generar plantas de interés agronómico que expresen péptidos capaces de inactivar a los patógenos que las atacan. Por ejemplo, en la mariposa productora de seda *Hyalophora cecropia* se aisló un péptido catiónico de tipo cecropina-melitina, el cual mostró un amplio espectro de actividad contra fitopatógenos. Posteriormente se aisló el gen y se expresó en plantas de papa y tabaco. Las plantas transgénicas fueron capaces de resistir el ataque de hongos como *Fusarium* sp, *Phytophthora* sp y la bacteria *Erwinia* sp.

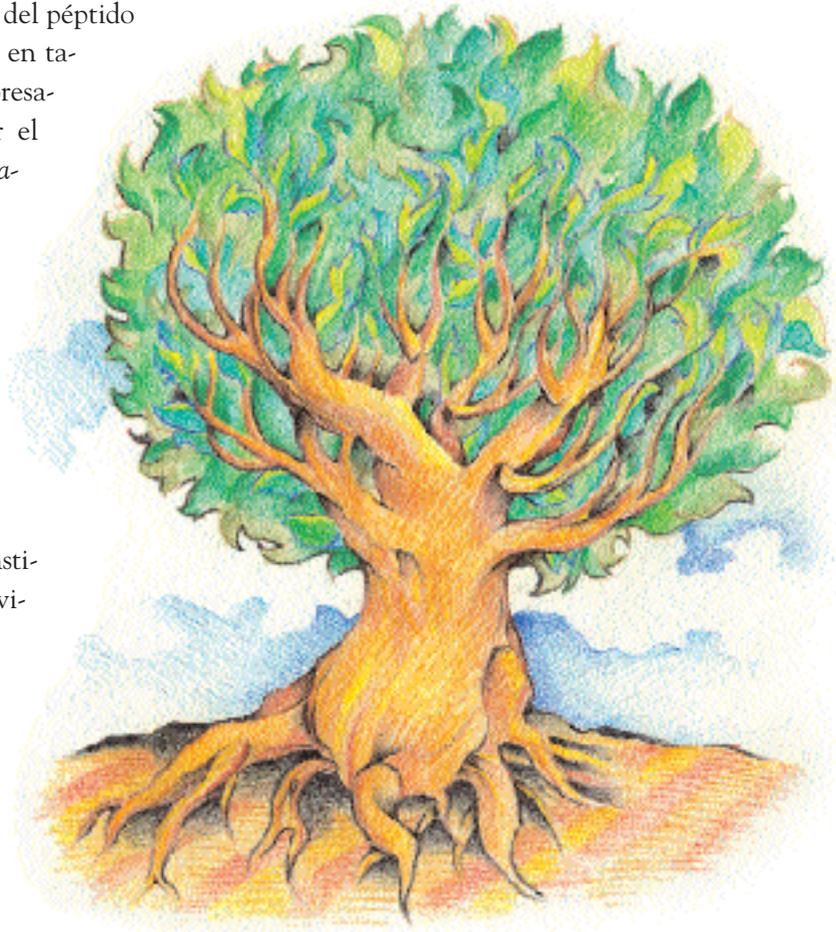
De manera similar, a partir de la piel de *Xenopus laevis* se aisló la magainina 2, la cual funciona como péptido de defensa. DeGray y colaboradores (2001) emplearon el ADN que codifica para un análogo de la magainina 2 (péptido sintético MSI-99), lo introdujeron en el genoma plasmídico de tabaco y las plantas transgénicas resultantes fueron capaces de inhibir en más de un 95 por ciento el crecimiento de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv *tabaci* y de los hongos *Aspergillus flavus*, *Fusarium moliiforme* y *Verticillium dahliae*. En análisis de la descendencia se encontró que la protección se mantenía aún después de dos generaciones.

En otro trabajo, introdujeron el gen del péptido Myp30, otro derivado de la magainina, en tabaco. Las plantas transgénicas que expresaron Myp30 fueron capaces de inhibir el crecimiento de la bacteria *Erwinia carotava* y del hongo *Pernospora tabacina*.

En las plantas también se han aislado péptidos biocidas. Por ejemplo, del endospermo de maíz se aisló un grupo de péptidos solubles básicos que mostraron actividad antimicrobiana. Uno de esos péptidos se denominó MBP-1 y se purificó a homogeneidad. MBP-1 tiene un peso molecular de 4 mil 127 daltons, está constituido por 33 aminoácidos y exhibe actividad antimicrobiana *in vitro*. Además, inhibe la germinación de las esporas y el crecimiento de las hifas de varios hongos fitopatógenos, como *Fusarium moniliforme* y *Fusarium graminearum*.

De las semillas de *Mirabilis jalapa* se han aislado dos péptidos que inhiben fuertemente el crecimiento de hongos. Fueron denominados como Mj-AMP1 y Mj-AMP2, respectivamente; dichos péptidos son básicos y están compuestos por 37 y 36 aminoácidos; ambos contienen tres puentes disulfuro y difieren entre sí en sólo cuatro aminoácidos. Tanto Mj-AMP1 como Mj-AMP2 mostraron un amplio espectro de actividad antifúngica, inhibiendo el crecimiento de *Fusarium sporotrichoides*, *Fusarium culmorum* y de trece cepas más de hongos con gran efectividad.

Recientemente se aislaron cuatro péptidos a partir de las semillas de *Impatiens balsamina*. Estos péptidos inhibieron el crecimiento de una amplia gama de hongos y bacterias *in vitro*, pero fueron inocuos cuando se aplicaron a cultivos de fibroblastos o células de piel humana. Fueron denominados como Ib-AMP1, Ib-AMP2, Ib-AMP3, Ib-AMP4, están constituidos por cerca de 20 aminoácidos, son altamente básicos y contienen cuatro residuos de cisteína a través de las cuales forman puentes disulfuro intramoleculares. En este mismo trabajo se aisló y caracterizó el ADN complementario (obtenido a partir del ARN mensajero) de estos péptidos, determinándose que los cuatro son codificados en un solo ARN mensajero y que la proteína precursora consiste



De las semillas de *Mirabilis jalapa* se han aislado dos péptidos que inhiben fuertemente el crecimiento de hongos

de un prepéptido seguido de seis dominios de péptidos maduros, cada uno precedido de un dominio de propéptido. Entre los hongos cuyo crecimiento inhiben se encuentran *Alternaria longipes*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium digitatum*, *Collectotrichum* sp., *Gloeosporium solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

Los péptidos biocidas son componentes importantes de la defensa del hospedero y potencialmente pueden ser utilizados para mejorar plantas de interés agronómico a través de la ingeniería genética

También se han identificado polipéptidos vegetales de mayor peso molecular que exhiben actividad antipatógena; un ejemplo es una proteína de 10 kilodaltons aislada de semillas de girasol (*Helianthus annuus*). Esta proteína tiene alta similitud con las que realizan la transferencia de lípidos, y se denominó Ha-AP10. Es capaz de inhibir el crecimiento de *Fusarium solani* y *Fusarium* sp a concentraciones de tan sólo 6.5 microgramos por mililitro. Otro polipéptido (Cs-TL1) fue aislado de semillas de castaña y presentó actividad contra *Trichoderma viride* y *Fusarium oxysporum*, *in vitro*. Tiene un peso molecular de 23 kilodaltons, es muy básico y parece que se secreta a la matriz extracelular.

Dado el creciente interés por incrementar la resistencia de las plantas agronómicamente importantes, se está explorando la posibilidad de conferirles resistencia mediante la transferencia y sobreexpresión de los péptidos biocidas aislados a partir de otros vegetales. Un ejemplo reciente es el descrito por Gao y colaboradores (2000), quienes demostraron que el péptido alfaAFP, aislado de semillas de alfalfa, fue capaz de conferir protección a plantas transgénicas de papa contra el hongo *Verticillium dahliae*. Además, esta resistencia se expresó tanto en condiciones de invernadero como de campo, y los niveles de tolerancia conferidos a las plantas fueron similares o superiores a los obtenidos con la aplicación de sustancias agroquímicas.

También se ha demostrado que la expresión de las defensas vegetales en otros organismos o en plantas transgénicas confiere resistencia al ataque de patógenos. La expresión constitutiva en tabaco de una defensina obtenida de la raíz de rábano dio resistencia a *Alternaria longipes*, y en tomate incrementó la resistencia a *Alternaria solani*. En canola (*Brassica napus*) la expresión constitutiva de una defensina de chícharo aumentó ligeramente la resistencia a *Leptosphaeria maculans*.

En conclusión los péptidos biocidas son componentes importantes de la defensa del hospedero y potencialmente pueden ser utilizados para mejorar plantas de interés agronómico a través de la ingeniería genética y aumentar así su resistencia a los patógenos que las afectan.

## PERSPECTIVAS

Muchos de los trabajos descritos se han realizado a nivel de laboratorio o en condiciones de invernadero, lo cual en sentido estricto no representa las condiciones de campo. Pero cabe enfatizar que muchas de estas evaluaciones se han realizado contra fitopatógenos que afectan a un amplio rango de hospederos,

tales como *Rhizoctonia solani* y *Botrytis cinerea*, patógenos para los cuales hay pocas fuentes de resistencia para el mejoramiento convencional de cultivos agrónomicamente importantes (Punja, 2001).

La producción de plantas transgénicas resistentes a diferentes enfermedades se está explorando intensamente en el sector privado, pero hasta hoy sus desarrollos no han sido divulgados. No obstante, el mercado potencial de los compuestos con actividad antifúngica tiene un futuro estable y sus oportunidades se expanden continuamente. En el mundo occidental, la demanda de compuestos antifúngicos crece en paralelo con el aumento en la demanda de compuestos de belleza; en los países en desarrollo cada día se requieren más compuestos para controlar el crecimiento de hongos en los alimentos y para terapias médicas como tratamientos contra el virus de la inmunodeficiencia humana, causante del sida, el transplante de órganos y las terapias contra el cáncer. Ésta es una de las partes del mercado con mayor crecimiento, de forma que en la actualidad el mercado mundial de compuestos antifúngicos genera cerca de cinco mil millones de dólares.

Existen más de cien compañías en el mundo que están involucradas activamente en la investigación y desarrollo de compuestos antifúngicos. Varias son las farmacéuticas más grandes, como Merck, Pfizer, Schering-Plough, Farmacéutica Fujisawa y Janssen. En el último año estas compañías han desarrollado al menos 20 tipos diferentes de compuestos antifúngicos; los de tipo "azol" ocupan el primer lugar, pero los péptidos antifúngicos o antimicrobianos están muy cerca (Bioseeker Group, <http://leaddiscovery.co.uk/reports/bioseeker002.html>).

Como la tecnología se dirige hacia la utilización de promotores específicos para tejidos o hacia la utilización de promotores inducibles por el patógeno, la utilización de péptidos con propiedades antifúngicas o antimicrobianas y la manipulación de los genes de resistencia en las plantas ayudarán potencialmente en un futuro a prevenir las pérdidas ocasionadas por dichos organismos.

No obstante las ventajas y bondades que se vislumbran con la generación de plantas que sobreexpresen péptidos biocidas, no deberá perderse de vista que, de las cerca de 100 publicaciones científicas que han aparecido a la fecha con este tema, cerca del 30 por ciento han sido realizadas utilizando el tabaco como sistema modelo. Por ello es necesario que en los próximos 5 a 10 años se realicen estudios en un mayor número de especies, y sobre todo que se incluyan las plantas que son la base fundamental de la alimentación.

En los países en desarrollo cada día se requieren más compuestos para controlar el crecimiento de hongos en los alimentos y para terapias médicas como tratamientos contra el virus de la inmunodeficiencia humana, causante del sida, el transplante de órganos y las terapias contra el cáncer

Además, no deberá olvidarse que actualmente no existe una legislación adecuada en cuanto al manejo de las plantas mejoradas genéticamente: por ello deberá trabajarse en este sentido y ser conscientes de que si no se alcanza un consenso en este punto, las plantas sobreproductoras de péptidos biocidas no podrán liberarse al mercado, hecho que sin duda retrasará el avance de esta área de estudio.

## Bibliografía

- Ai-Guo G., S. M. Hakimi, C. A. Mittanck, Y. Wu, B. M. Woerner, D. M. Stark, D. M. Shah, J. Liang y C. M. T. Rommens (2000), "Fungal pathogen protection in potato by expression of a plant defensin peptide", *Nature Biotechnology* 18: 1307-1311.
- Dangl J. L. y J. D. G. Jones (2001), "Plant pathogens and integrated defence responses to infection", *Nature* 411: 826-833.
- DeGray G., K. Rajasekaran, F. Smith, J. Sanford y H. Daniell (2001), "Expression of an antimicrobial peptide via the chloroplast genome to control phytopathogenic bacteria and fungi", *Plant Physiol* 127:852-862.
- DeLucca A. J. y T. J. Walsh (2000), "Antifungal peptides: origin, activity, and therapeutic potential", *Revista Iberoamericana de Micología* 17: 116-120.
- Dimarcq J-L., P. Bullet y J. Hoffmann (1998), "Cysteine-rich antimicrobial peptides in invertebrates", *Biopolymers* 47: 465-477.
- Hancock R. E. W. y D. Chapple (1999), "Peptide antibiotics", *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 43: 1317-1323.
- Harrison S. J., J. P. Marcus, K. C. Goulter, J. L. Green, D. J. Maclean, J. M. Manners (1997), "An antimicrobial peptide from the Australian native *Hardenbergia violacea* provides the functionally characterised member of a subfamily of plant defensins", *Aust. J. Plant Physiol.* 24: 571-578.
- Huang W. H. (2000), "Action of antimicrobial peptides: Two state model", *Biochemistry* 39: 8347-8351.
- Jones, R. W., y D. Prusky (1999), "Expresion of an antifungal peptide in *Saccharomyces*: A new approach for biological control of the postharvest disease caused by *Colletotrichum coccodes*", *Phytopathology* 92, 33-37.
- Li, Q., C. Lawrence, X. Hong-Yan, R. A. Babit, W. T. Bass, I. B. Maiti y N. P. Everett (2001), "Enhanced disease resistance conferred by expression of an antimicrobial magainin analog in transgenic tobacco", *Planta* 212: 635-639.
- Park, S-W, N. M. Stevens y J. M. Vivanco (2002), "Enzymatic specificity of three ribosome-inactivating protein against fungal ribosomes, and correlation with antifungal activity", *Planta* 2002: 227-234.
- Punja Z. K. (2001), "Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens- a review of progress and future prospects", *Canadian Journal Plant Pathology* 23: 216-235.
- Zaslöf M. (2002), "Antimicrobial peptides of multicellular organisms", *Nature* 415: 389-395.

---

**Yereni Minero García** cursó la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo en la Universidad Autónoma de Yucatán. Realizó su tesis de licenciatura en el Centro de Investigación Científica de Yucatán, donde ha trabajado en proyectos sobre el metabolismo secundario y aspectos bioquímicos en *Catharanthus roseus*. Es coautora de cuatro artículos en revistas internacionales relacionados con la inmunocitocalización de la enzima triptofano descarboxilasa y sobre metabolismo secundario. Ha impartido cursos sobre electroforesis de proteínas.  
ymin@cicy.mx

**Ignacio Rodrigo Islas Flores** cursó la carrera de Biología en la Facultad de Ciencias de la UNAM, la maestría en Biotecnología Vegetal en el Instituto Tecnológico de Mérida, y el doctorado en Ciencias y Biotecnología de Plantas en el Centro de Investigación Científica de Yucatán. Realizó un posdoctorado en el Instituto de Biotecnología de la UNAM. Su interés actual es la transducción de señales durante la embriogénesis cigótica y somática de plantas y el estudio y análisis de proteínas con actividad biológica, presentes en semillas de cultivos tropicales. Es autor de siete artículos internacionales, dos capítulos de libro y dos artículos de divulgación. Actualmente es investigador titular en Centro de Investigación Científica de Yucatán y miembro del Sistema Nacional de Investigadores.  
islasign@cicy.mx

**Andrew C. James Kay** cursó su licenciatura y doctorado en el Wye College, de la Universidad de Londres. Realizó un posdoctorado en la Universidad de Minnesota. Ha publicado seis artículos internacionales y diversos capítulos de libros. Ha sido consultor de la Agencia Internacional de Energía Atómica/ FAO, en Viena. Ha sido designado experto para la cooperación técnica en Bolivia, dentro del programa "Mutation Breeding: *in vitro* culture of basic food crops (*Solanum tuberosum andigena and Quinoa*). Actualmente es investigador en el Centro de Investigación Científica de Yucatán, donde es responsable del Laboratorio de Biotecnología Molecular.  
andyj007@cicy.mx