

Resumen

Frente al ataque de un patógeno, las plantas pueden producir una gran diversidad de factores de defensa tales como metabolitos secundarios y una amplia gama de proteínas y péptidos antimicrobianos (AMPs), entre los que se encuentran las defensinas. Estas son pequeñas proteínas catiónicas ricas en cisteína cuya principal actividad reportada es la antifúngica, pero se han descrito también muchas otras acciones para estas proteínas. En vista su alto grado de conservación estructural, las diferencias en las especificidades y las múltiples actividades de estas proteínas pueden ser atribuidas a la variación en la secuencia aminoacídica y a la distribución de cargas de los loops expuestos al solvente que modulan su función biológica. En estos loops se localizan dos motivos importantes su actividad, el g-core, un motivo de relevancia para los AMPs en general, y el a-core que no ha sido estudiado en profundidad. Mi plan de tesis está orientado hacia la obtención y el estudio de nuevas proteínas de defensa de una especie vegetal silvestre de la flora argentina, que puedan resultar moléculas atractivas para su potencial aplicación agronómica o médica. Las especies silvestres constituyen una valiosa fuente de AMPs por su notable adaptación al medio ambiente, lo que resulta en una mayor resistencia a enfermedades en comparación con los cultivos agrícolas. En el transcurso de mi tesis, a partir de ARNm de flores de *Silybum marianum* se clonaron dos defensinas (DefSm1-D y DefSm2-D), se realizó el análisis de las

secuencias, la predicción de la estructura terciaria a través del modelado molecular por homología y su análisis funcional. Con el fin de profundizar el conocimiento de las relaciones estructura-función e identificar regiones relacionadas con la actividad antifúngica, a partir del estudio estructural de las defensinas se realizó el diseño racional péptidos derivados de las regiones a- y g-core. Se realizó la síntesis química de péptidos en fase sólida utilizando la estrategia Fmoc y se purificaron y analizaron por HPLC-RP, ESI-MS y CD. Se evaluó y caracterizó la acción de los péptidos sobre dos hongos fitopatógenos del género *Fusarium*. Los péptidos derivados de DefSm2-D resultaron ser activos en concentraciones micromolares frente a *F. graminearum*, un fitopatógeno que afecta al cultivo de trigo produciendo no sólo mermas significativas en el rendimiento sino también micotoxinas que permanecen en los granos. Se evaluó el tiempo necesario para que los péptidos más activos produzcan muerte celular; la capacidad permeabilizadora de membrana por microscopía de fluorescencia, y el efecto sobre la ultraestructura por TEM. Los péptidos derivados del α -core produjeron agregación de los conidios del hongo y un efecto diferencial sobre la morfología de la pared celular. Nuestra investigación sugiere que las regiones a- y g-core estarían implicadas en la actividad antifúngica de la defensina de origen actuando mediante mecanismos diferenciales.

Multimedia

<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/114158>