

PERFIL PROTEICO Y MORFOLOGÍA DE *ACTINOMUCOR ELEGANS* LBM 239 CULTIVADO CON CARBENDAZIM

BELARDITA, Agustín A^a; BAUMANN, Alicia J.^a; DÍAZ, Gabriela V.^{a,b}; ARGÜELLO, Beatriz V.^c; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}.

a) Laboratorio de Biotecnología Molecular. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. b) CONICET. c) Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

INTRODUCCIÓN

El Carbendazim es un fungicida sistémico con efectos tóxicos sobre los seres vivos y persistencia ambiental. El hongo *Actinomucor elegans* LBM 239 aislado de muestras de suelo hortícola de Misiones presentó tolerancia al Carbendazim a 100 ppm. La capacidad de tolerancia de los hongos puede ser aprovechada en estrategias biotecnológicas para mitigar sus efectos ambientales.

OBJETIVO

Caracterizar los efectos tóxicos del Carbendazim sobre el perfil proteico y la morfología de *A. elegans* LBM 239

METODOLOGÍA

Las proteínas se obtuvieron de los sobrenadantes de *A. elegans* cultivado en medio Czapek suplementado con (g L-1) peptona de carne 2, bagazo de caña 15 y extracto de levadura 2, más una concentración de Carbendazim a 100 ppm y sin éste en el control. Se incubaron a 28 °C durante 10 días. Los sobrenadantes, libres de micelio, se obtuvieron por filtración al vacío, centrifugación y clarificación. Se procedió con la reducción-alquilación y precipitación de proteínas. Las muestras se enviaron a analizar por espectrometría de masa al CEQUIBIEM (UBA). Se analizaron las proteínas identificadas utilizando los programas SignalP 4.1, SecretomeP, DeepLoc, BlastP y las bases de datos Uniprot y Pfam.

Para el análisis morfológico, el hongo se cultivó en medio extracto de malta líquido con y sin el fungicida durante 14 días. Se evaluaron los cambios en el micelio fúngico mediante observación visual directa y por microscopía electrónica de barrido realizado por el LIMF (UNLP). Para la determinación del diámetro de las hifas y esporas se realizaron 50 mediciones en cada imagen utilizando el programa ImageJ. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y test de significancia estadística utilizando el programa Statgraphics.

RESULTADOS

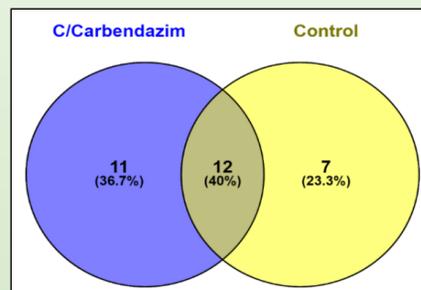


Figura 1. Diagrama de Venn con la distribución de las proteínas identificadas según el medio de cultivo de *A. elegans* LBM 239.

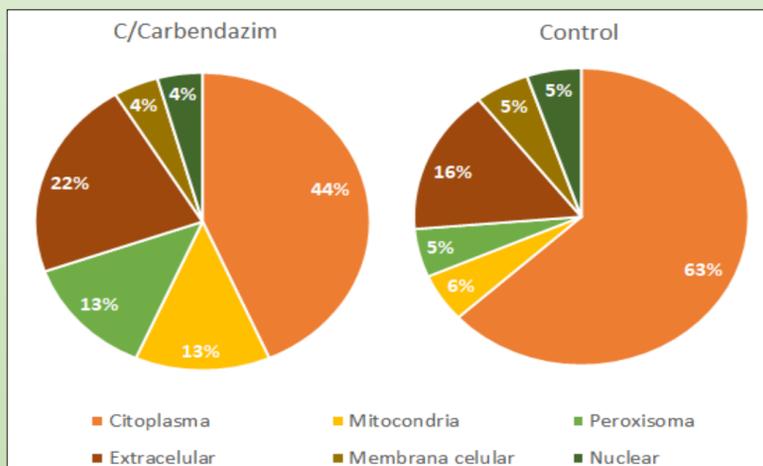


Figura 2. Porcentajes de proteínas identificadas según su ubicación en la célula.

Enzima Cu/Zn SOD
Proteína Gβ

Identificación de proteínas involucradas en la respuesta al estrés oxidativo únicamente en la muestra con Carbendazim

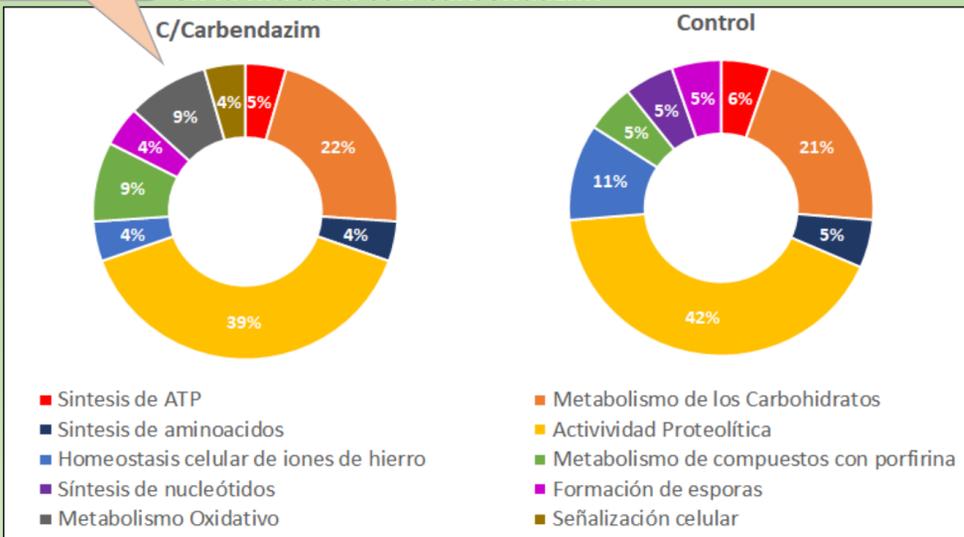


Figura 3. Porcentajes de proteínas según su función biológica predicha.

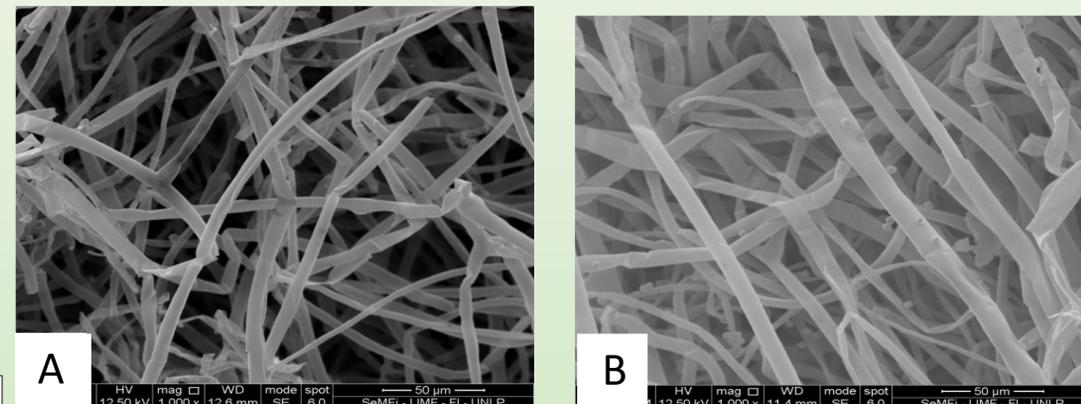


Figura 4. Microfotografías electrónicas de barrido (50 µm) de las hifas y esporas de *A. elegans* LBM 239 en presencia (A) y ausencia (B) de Carbendazim

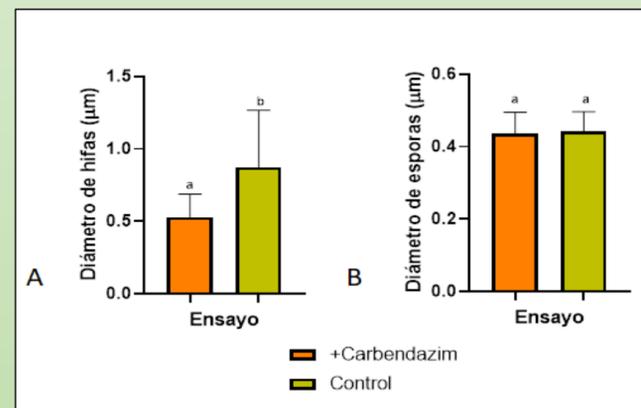


Figura 5. Comparación de medias del diámetro de las hifas (A) y esporas (B) de *A. elegans* LBM 239 en medio con Carbendazim y su control (sin Carbendazim).

Las hifas expuestas al medio con Carbendazim presentaron un diámetro significativamente menor que las hifas del control ($p < 0,05$). No se observaron diferencias significativas en el diámetro de esporas.

CONCLUSIONES

A pesar de la tolerancia de *A. elegans* LBM 239 al Carbendazim, se evidenciaron los efectos tóxicos del fungicida en el perfil proteico resultado del estrés oxidativo y en su morfología.

La capacidad de *A. elegans* LBM 239 para desarrollarse en presencia de Carbendazim y la contribución al esclarecimiento de los mecanismos involucrados en esta tolerancia constituyen un primer paso para la evaluación del potencial de este organismo como biorremediador de suelos contaminados con este fungicida.