



## INMUNODETECCIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS CON NANOPARTÍCULAS DE ORO

José Francisco López Pérez<sup>1</sup>, Lérica Liss Flores Villavicencio<sup>1</sup>, Juan Luis Pichardo Molina<sup>2</sup>, Julio César Villagómez Castro<sup>1</sup>, Francisco Martín Huerta Martínez<sup>3</sup>, Cecilia Neri Luna<sup>3</sup> y José Pedro Castruita Domínguez<sup>3</sup>

1 Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, 2 Centro de Investigaciones en Óptica, A. C., 3 Universidad de Guadalajara. jf.lopez.perez@ugto.mx

Diversos hongos fitopatógenos pertenecientes al género *Pestalotiopsis* provocan una variedad de enfermedades tales como cáncer, mancha foliar, clorosis severa y varias enfermedades postcosecha en un amplio rango de frutos de importancia agronómica como el arándano azul (*Vaccinium corymbosum*), avellana (*Corylus avellana*), guayaba (*Psidium guajava*) entre otros. México ocupa el cuarto lugar como productor de arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) a nivel mundial, con una producción total de 14,563.19 toneladas y un valor de producción de 524, 088, 747 millones de pesos. Jalisco, Colima, Baja California y Michoacán aportan el 96 % de la producción total nacional de arándano azul en el país (SAGARPA, 2014). En este sentido, se tiene como objetivo la detección de *Pestalotiopsis* spp., implementando un ensayo inmunodiagnóstico específico para la detección del fitopatógeno en muestras ambientales, empleando nanopartículas de oro y anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. (NPsAu-Ab $\alpha$ *Pestalotiopsis* spp.). Los anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. se obtuvieron mediante un protocolo de inmunización en conejos macho raza Nueva Zelanda, los cuales se purificaron mediante cromatografía de afinidad en una columna de proteína G-Agarosa. Obteniendo un patrón electroforético en las fracciones enriquecidas de los anticuerpos con una Mr de 25 y 50 kDa correspondientes a la gamma globulina (IgG), cadena ligera y pesada respectivamente. Mediante inmunocitoquímica, se determinó la localización de las proteínas antigénicas de *Pestalotiopsis* spp. delimitando la señal de la sonda fluorescente en la pared celular y los apéndices basales y apicales con una distribución heterogénea. Por otra parte, se inmunodetectaron por Western blot las proteínas de mayor antigenicidad obteniendo una Mr  $\geq$  137 - 29 kDa. Dichas proteínas, al ser teñidas con la tinción de PAS reveló su naturaleza glicoproteica. Por otra parte, se sintetizaron NpsAu por el método de Turkevich, cuyo análisis de espectroscopia de absorción óptica, mostró que la banda de absorción está centrada alrededor de los 520 nm. Mientras que la funcionalización se llevó a cabo usando polielectrolitos. La microscopía electrónica de transmisión muestra que la forma geométrica de las NPsAu corresponde a nanopartículas esféricas, con un tamaño promedio de 24.0 nm, con un valor de potencial Z de -40 mV. Por otra parte, el radio hidrodinámico de las NPs-Au obtenido por DLS para el caso de las NPs-Au funcionalizadas fue de 124.0 $\pm$ 2nm, mientras que los resultados de las mediciones de potencial Zeta, se obtuvo un valor promedio de 64mV respectivamente. Se biofuncionalizaron las nanopartículas de oro con los anticuerpos policlonales anti-*Pestalotiopsis* spp. detectando conidias por el complejo NPsAu-Ab  $\alpha$  *Pestalotiopsis* spp. tras un cambio de coloración visible en la solución, a concentraciones de: 10, 100, 1000 y 10000 conidias/mL. determinando la sensibilidad a través de espectrofotometría UV-Visible. Estos resultados preliminares, demuestran el potencial uso de anticuerpos policlonales biofuncionalizados con NPs-Au como un método de diagnóstico para determinar la presencia de *Pestalotiopsis* spp.