Evaluación de la citotoxicidad de la proteína Harpin αβ en células de pulmón

José Francisco López Pérez[1], Lérida Liss Flores Villavicencio[1], Yadira Martínez Méndez[2], Carlos Amador Bañuelos Camacho[2], Cecilia Neri Luna[2], Francisco Martín Huerta Martínez[2], Julio César Villagómez Castro[2] y Pedro Castruita Domínguez[2]

1 Departamento de Biología, DCNyE, Universidad de Guanajuato, 2 Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. jf.lopez.perez@ugto.mx

El uso de activadores de la Resistencia Sistémica Adquirida en plantas, ha generado grandes expectativas en la reducción de la aplicación de plaguicidas, con el objeto de contribuir en el eficiente Manejo Integrado de los Cultivos y buscar tecnologías que permitan optimizar los recursos disponibles, la industria ha puesto en práctica la aplicación de bioestimulantes. El uso de estas moléculas, en combinación con otros agroquímicos, representa una estrategia novedosa en el manejo de cultivos para aumentar la productividad y abastecer a una población en continuo crecimiento, así como reducir el impacto ambiental en el ecosistema y en la salud humana.

Dentro de estos bioestimulantes, existe la proteína Harpin αβ, la cual promueve un adecuado desarrollo de la planta y del fruto; activa mecanismos de defensa en la planta contra diversos fitopatógenos y resistencia al estrés. Aunque Harpin αβ es un bioestimulante prometedor en las prácticas establecidas de Manejo Integrado de Plagas y no presenta acumulación en el ambiente, se le ha considerado de acuerdo con la NOM-232-SSA1-2009, como ligeramente tóxico. En este sentido, para evaluar el efecto de la proteína Harpin αβ en las células epiteliales humanas de pulmón (A549, CCL-185 ATCC), se utilizó el producto comercial (PHC® Messenger Gold®). Para ello, se sembraron 1000 células/mL de medio DMEM:F12 adicionado con 10% SFB y se cultivaron a 37°C en atmósfera de 5% de CO_2. Posteriormente, las células se expusieron en tres ocasiones, cada 4 días durante 4 h, al producto comercial en dilución seriada, utilizando 7.5 g/L como la concentración más alta. Al finalizar la última exposición, se realizó un análisis celular para determinar la viabilidad (ensayo de XTT), la biomasa (Tinción con cristal violeta) y el análisis de organelos como el citoesqueleto (Faloidina-FITC) y núcleo (DAPI). Como control positivo de daño se utilizaron 50 y 250 µM de H_2O_2 y el control negativo fueron células no expuestas. Los resultados indican un 92 % de la viabilidad en las células expuestas a elevadas concentraciones del producto; sin que se observara modificación en la adhesión celular y por lo tanto en la biomasa, sin importar la concentración utilizada.

Sin embargo, al analizar el citoesqueleto el cual es responsable de la morfología celular, el transporte, la división celular, entre otros; se observó la pérdida de la organización de los microfilamentos provocando cambios en la morfología celular. En contraste, el núcleo no presentó cambios evidentes en la distribución de la cromatina.

Es evidente que el uso de equipo de seguridad, por parte del personal, es muy importante ya que en la práctica diaria se tiene una exposición constante a la proteína Harpin αβ en el momento de su preparación y aplicación (aspersión foliar), lo cual podría ocasionar una intoxicación en el personal ocupacionalmente expuesto.