

Leopoldo Palma (2,4), Bárbara Ghiglione (3,4), Melisa Pérez (1), Augusto Salas (1,4), Marcelo Berretta (1,4), **Diego Sauka (1,4)***
 (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zootecnia Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB), Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), Buenos Aires, Argentina. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.
 * sauka.diego@inta.gov.ar

Introducción

Bacillus thuringiensis es una bacteria gram positiva que produce durante la esporulación uno o más cuerpos parasporales cristalinos proteínicos (Cry) responsables de su actividad letal para diversos invertebrados (artrópodos y algunos nematodos). Actúan previa ingestión por parte del huésped, resultando en su intoxicación, daño intestinal y consiguiente muerte. La cepa INTA Mo14-4 perteneciente al serovar *darmstadiensis* produce un cristal bipiramidal y una inclusión en forma de barra (Fig. 1A), compuestos por proteínas de 130, 60 y 40 kDa (Fig. 1B). Bioensayos realizados con cultivos esporulados de esta cepa mostraron niveles altos de toxicidad para el nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus*. A pesar de su importancia en la agricultura y salud humana, los estudios realizados con cepas de *B. thuringiensis* nematocidas son actualmente escasos, siendo también limitada la información asociada a sus secuencias genómicas.

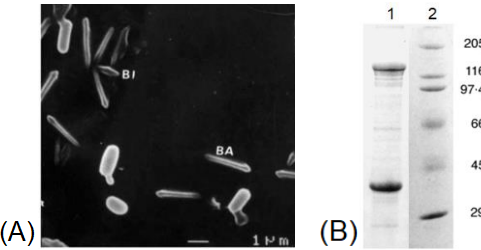


Fig. 1. (A) Imagen de microscopía electrónica de transmisión de un complejo esporacristal de INTA Mo14-4. Inclusión en forma de barra [BA] y cristal bipiramidal [BA]. (B) Perfil proteico de los cristales de INTA Mo14-4 [1] y marcador de peso molecular (kDa) [2].

Objetivo

Secuenciar y analizar el genoma de INTA Mo14-4, focalizando el estudio en la identificación de genes asociados a factores de virulencia.

Metodología

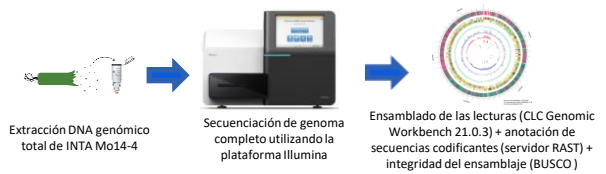


Fig. 2. Esquema resumido de la metodología empleada.

Resultados

De la secuenciación genómica se obtuvieron 7.103.548 lecturas simples con una longitud promedio de 241 pb.

Características	Contenido
Contigs > 500 pb	261
Largo total (pb)	6.403.763
Contig más largo (kb)	372,79
N50 (kb)	76,99
Secuencias codificantes	6.986
Contenido en GC (%)	35,1
Complejidad genoma (%)	99,8

Tabla 1. Principales estadísticas del ensamblado del genoma de INTA Mo14-4.

Tabla 2. Características de secuencia de las proteínas predichas de INTA Mo14-4.

Proteína predicha	Longitud (aa)	Peso molecular (kDa)	Mejor hit blastp	% identidad	Función hipotética
Cry5	1245	139,7	Cry5Ba	99	Actividad nematocida
Cry21	512	58,5	Cry21Aa	43	Actividad nematocida
Cry65	1060	117,2	Cry65Aa	71	Parasporina

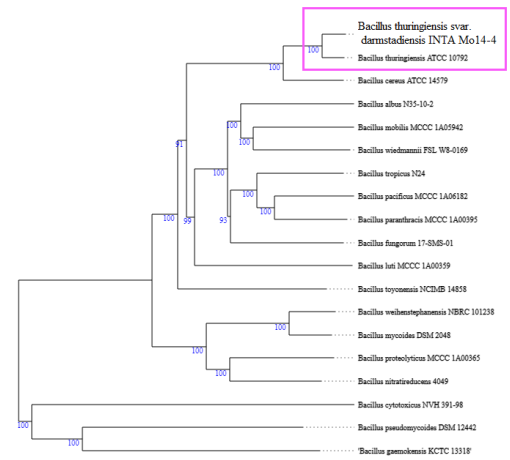


Fig. 3. Análisis filogenético del genoma de INTA Mo14-4 que comparte la misma rama del dendograma taxonómico que la cepa tipo de *B. thuringiensis*.

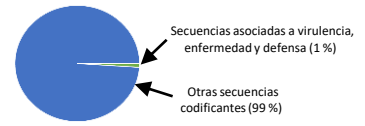


Fig. 4. Del total de 6.986 secuencias codificantes de proteínas identificadas, 73 fueron asignadas con funciones en la virulencia, enfermedad y defensa.

Conclusiones

Se aportan datos para desarrollos tecnológicos futuros destinados tanto a la investigación como al diseño de nuevos bionematocidas bacterianos. El rol de las proteínas homólogas a Cry5Ba1 y Cry21Aa1, como responsables de la actividad nematocida de la cepa INTA Mo14-4, queda pendiente de comprobación.