

Bacillus thuringiensis Bt_UNVM-84, una cepa cordobesa con actividad insecticida contra *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae).

Diego Sauka (1,6), Melisa Pérez (1), Antonela Marozzi (2)*, Antonella Molla (3), Angelika Fiodor (4), Cecilia Peralta (5,6), Leopoldo Palma (5,6).

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Bariloche, Argentina. (3) FMC Argentina, Carlos Pellegrini 719, C1009 CABA. (4) Department of Microbiology, Faculty of Biology, University of Białystok, 15-245 Białystok, Poland. (5) Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB-CONICET), Universidad Nacional de Villa María, Argentina. (6) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.



Introducción

Bacillus thuringiensis es una bacteria gram positiva capaz de producir durante la fase de esporulación, unas inclusiones cristalinas de naturaleza proteínica, comúnmente conocidos como cristales paraesporales, con actividad tóxica específica contra distintas especies de insectos y algunos nematodos. Estos cristales paraesporales actúan por ingestión, solubilizándose y activándose en el intestino medio del insecto susceptible, produciendo daños en el epitelio intestinal y la muerte. Esta propiedad ha hecho que *B. thuringiensis* sea actualmente la bacteria más utilizada en el control biológico de plagas en la agricultura, ya sea mediante la producción de formulados Bt o mediante la inclusión de los genes insecticidas en plantas transgénicas resistentes a los insectos.

Objetivo

Aislamiento de cepas de *B. thuringiensis* autóctonas de la provincia de Córdoba y caracterización de su actividad insecticida.

Métodos

• El aislamiento e identificación se realizó según Palma (2015)¹ (Figura 1).

• El análisis en microscopio electrónico se realizó en CIME (Tucumán).

• La PCR de genes *cry* se llevó a cabo según Noguera e Ibarra (2010)².

• El gel SDS-PAGE realizó según Pérez, et al., (2017)³.

• Se realizaron bioensayos de incorporación en dieta empleando larvas neonatas de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) y *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) y de 2do estadio de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae).

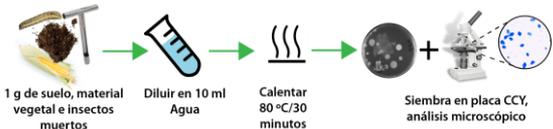


Figura 1. Protocolo de aislamiento de cepas de *B. thuringiensis*.

Resultados

• Se aisló una cepa con fenotipo *B. thuringiensis* de muestras de Oncativo (Figura 2 A y B).

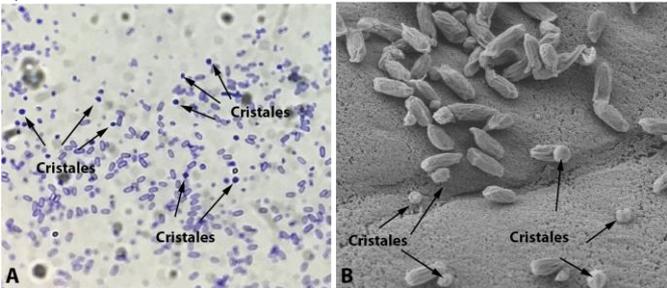


Figura 2. Cristales esférico-amorfos. A) Tinción azul de Coomassie y B) SEM.

• La cepa produjo un amplicón *cry* y una banda de proteína Cry comparables al control positivo (Fig. 3 A y B).

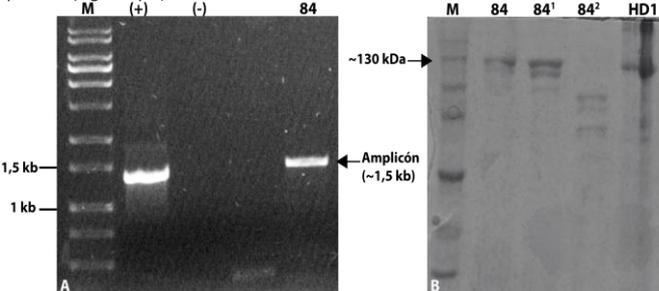


Figura 3. Detección de genes y proteínas Cry. A) Detección de genes *cry* mediante PCR con cebadores degenerados: M marcador de peso molecular, (+) cepa *B. thuringiensis* control HD1, (-) control negativo, 81 y 84 aislados y B) SDS-PAGE: M marcador de peso molecular, 84 biomasa Bt_UNVM-84 seca, 84¹ biomasa Bt_UNVM-84 solubilizada y 84² biomasa Bt_UNVM-84 solubilizada y digerida (activada) con la enzima tripsina.

• La cepa demostró poseer actividad insecticida (Tabla 1).

Tabla 1. Bioensayos con insectos realizados con cepa entera (espora + cristales).

Especie	% de Mortalidad Media
<i>Cydia pomonella</i>	25±5,9 ^a
<i>Alphitobius diaperinus</i>	21,7±12,3 ^b
<i>Anthonomus grandis</i>	91,7±5,9 ^b

^a5µg/mL de dieta, ^b2mg/mL de dieta

Discusión

- Se aisló una cepa de tipo *B. thuringiensis* denominada Bt_UNVM-84 desde muestras de suelo obtenidas de la localidad de Oncativo, Córdoba.
- Esta cepa reúne las características fenotípicas macro y microscópicas de la especie *B. thuringiensis*.
- Los resultados de bioensayos indicaron que la cepa Bt_UNVM-84 es poco activa contra *C. pomonella* (Lepidoptera) y *A. diaperinus* (Coleoptera).
- Los resultados de bioensayos también indicaron que la cepa Bt_UNVM-84 poseería potencial para utilizarse en el control del picudo del algodónero *A. grandis* (Coleoptera).
- La actividad insecticida contra el picudo del algodónero, así como las bases moleculares de su actividad, merecen ser estudiadas en más detalle.
- La secuenciación del genoma de la cepa Bt_UNVM-84 se encuentra actualmente en realización en el servicio de genómica de INTA Castelar.

Bibliografía

- Palma L. 2015. *Bt Research*. 6(7), 1-3.
- Noguera P.A., Ibarra J.E. 2010. *Appl Environ Microbiol*. 76(18), 6150-6155
- Pérez MP, et al. 2017. *Rev Argent Microbiol*. 49(3):264-272.