



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EVALUACION DE LA ACTIVIDAD NEMATICIDA DE CEPAS NATIVAS Y DE COLECCIÓN DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA EL NEMATODO formador de nódulos de la raíz (*Meloidogyne incognita*)

Juan Jaramillo Pineda, Lilia H. Morales-Ramos, Lucía L. Palacios-Cortez, Katiushka Arévalo-Niño y L. J. Galan-Wong. Instituto de Biotecnología, F.C.B., U.A.N.L., Pedro de Alba s/n Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza N. L. Tel/fax (81) 8376 4537. E-mail: [juanjp84@hotmail.com](mailto:juanjp84@hotmail.com)

*Palabras clave:* *Bacillus thuringiensis*, Proteínas Cry, *Meloidogyne*

**Introducción.** *Meloidogyne* spp es el nematodo que infesta las raíces de los cultivos de importancia, resultando en pérdidas anuales de cultivos valoradas en 50 billones USD anuales alrededor del mundo. *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) produce una o más inclusiones de cristal paraesporal (Cry o  $\delta$ -endotoxinas) Algunas Cry son tóxicas para nematodos. Estudios con sobrenadantes de los cultivos de *Bacillus* indican que enzimas catabólicas (proteasas, quitinasas y glucanasas), péptidos antibióticos o pequeñas moléculas secretadas por las especies de *Bacillus* pueden contribuir a la actividad contra nematodos fitopatógenos.

En este trabajo se pretende buscar entre nuestras cepas nativas de *B. thuringiensis*, alguna que tenga alta actividad nematocida contra *Meloidogyne* spp, determinando el efecto nematocida del complejo espora cristal (endotoxinas) y productos extracelulares (exotoxinas)

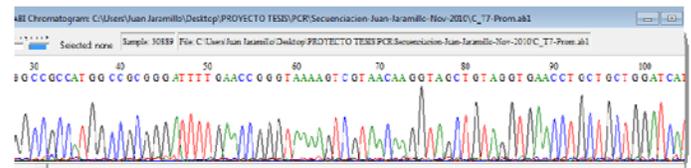
**Metodología.** Se implementó el cultivo de *Meloidogyne* mediante subcultivos en plantas de tomate y pepino. El efecto nematocida de cultivos completos de 18 cepas de *Bt* fue estudiado *in vitro* contra *Meloidogyne* spp. con ensayos directos en placas de 24 pozos, además el estudio del efecto nematocida de los sobrenadantes filtrados. Para identificar la especie de *Meloidogyne* con la cual estamos trabajando se amplificó una porción génica conservada que codifica el RNA ribosomal 18S la cual se ligo al vector pGEM®-T, este se propagó y se purificó para su secuenciación, después se realizó un análisis de identidad con el programa BLAST.

**Resultados** La actividad nematocida de cultivos completos (CC) de 18 cepas de *Bt* fue estudiado *in vitro* contra *Meloidogyne* spp. donde las cepas HD-1, GM-2, HD-59 y GM-70 mostraron mortalidad mayor al 90%. Además el estudio del efecto nematocida de los sobrenadantes de las 14 cepas con mortalidad mayor al 60% muestra que las cepas HD-530, HD-59, GM-70 tuvieron un efecto nematocida mayor al 40%. Después de un análisis de identidad realizado con el programa BLAST, se reveló que la porción génica amplificada presenta una similitud de 99% respecto a una secuencia génica perteneciente a *Meloidogyne incognita*.

**Tabla 1.** Efecto nematocida de cultivos y sobrenadantes de *Bacillus thuringiensis* en *Meloidogyne incognita*.

| CEPAS          | MORTALIDAD %<br>CC | MORTALIDAD %<br>SOBRENADANTES |
|----------------|--------------------|-------------------------------|
| HD-1           | 93                 | 20                            |
| GM-2           | 90                 | 22                            |
| GM-34          | 88                 | 35                            |
| HD-37          | 70                 | 5                             |
| HD-59          | 91                 | 46                            |
| GM-70          | 94                 | 41                            |
| HD-73          | 67                 | 6                             |
| HD-116         | 75                 | 16                            |
| HD-183         | 88                 | 30                            |
| HD-241         | 90                 | 4                             |
| HD-263         | 89                 | 23                            |
| HD-530         | 75                 | 50                            |
| HD-615         | 86                 | 24                            |
| HD-652         | 82                 | 6                             |
| Medio          | 7                  | 6                             |
| Agua destilada | 5                  | 0                             |

Mortalidad = # muertos / total x 100 Datos son promedios de las replicas



**Fig. 1.** Electroferograma de la región amplificada de una de las muestras, con las que se realizó una secuencia consenso.

**Conclusiones.** Las cepas HD-1, GM-2, HD-59 y GM-70 mostraron mortalidad mayor al 90% en cultivos completos. El efecto nematocida de los sobrenadantes muestra que las cepas HD-530, HD-59, GM-70 tuvieron un efecto nematocida mayor al 40%. La porción génica secuenciada presenta una similitud de 99% respecto a una secuencia génica perteneciente a *Meloidogyne incognita*.

**Agradecimiento.** Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

- Bibliografía.** 1. Boina D., Lewis E., Bloomquist J., (2008). *Pest management science* 64:646-653.  
2. Carneiro R.M., Souza I.S., Belarmino L.C., (1998). *Nematologia Brasileira*, 22 (1) 12-21  
3. Gholamreza S., Ali S., Abbas S., Amin N., (2008), *Microbiol.* 54: 812-822  
4. Lian, L.H, Tian, B.Y., Xiong, R., Zhu, M.Z., Xu, J. and Zhang, K.Q. (2007). *Letters in applied microbiology* 45: 262-269.  
5. Mohammed, Anwer, Enan, Ibrahim, Ghareeb and Moustafa. (2008). *Journal of cell and molecular biology* 7(1):57-66.