



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

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 δ -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 % CC	MORTALIDAD % 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

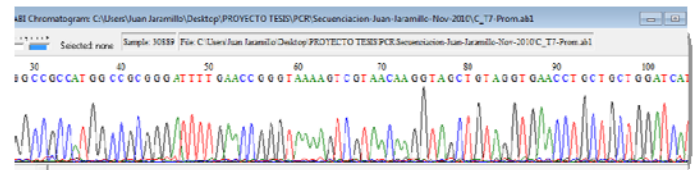


Fig. 1. Electroferograma de la región amplificada de una de las muestras, con las que se realizó una secuencia consenso.

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.