

POTENCIAL ENTOMOCIDA DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* AISLADAS DE CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR DEL ESTADO DE NAYARIT

Jackeline Lizzeta Arvizu-Gómez¹, Alejandro Hernández-Morales², Perla Judith López-Aguilar¹, Mercedes Nazareth Gutiérrez-Silva¹, Juan Ramiro Pacheco-Aguilar³, Abril Bernardette Martínez-Rizo¹. ¹Secretaría de Investigación y Posgrado-CENITT-Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, Nayarit. C.P. 63000. ²Universidad Autónoma de San Luis Potosí. ³Universidad Autónoma de Querétaro. E-mail: lizzeta28@gmail.com.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, genes *cry*, *vip*

Introducción. Los insectos plaga se encuentran dentro de los principales factores bióticos que ocasionan pérdidas de producción en diversos cultivos de importancia agrícola generando pérdidas económicas importantes en el sector productivo (1). Para su control se efectúa principalmente el uso de plaguicidas químicos, los cuales han resultado altamente perjudiciales para la salud humana y los ecosistemas. Esto ha motivado el desarrollo y uso de nuevas alternativas de control biológico entre las cuales resalta el uso de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). *Bt* es una bacteria Gram positiva que sintetiza proteínas insecticidas cristalinas, las cuales son tóxicas y específicas al insecto blanco. El potencial tóxico y diversidad genética de cepas de *Bt* varía entre países y regiones, donde nuevos aislados pudieran presentar actividad para el combate de insectos plagas emergentes de importancia agrícola (2). Con base en esto, el objetivo de este trabajo ha sido aislar y caracterizar aislados nativos de *Bacillus thuringiensis* del estado de Nayarit y evaluar su potencial génico insecticida.

Metodología. Muestras de suelo, colectadas de diferentes regiones productoras de caña de azúcar en Nayarit, libre de estrategias tecnológicas basadas en *Bt*, fueron utilizadas en este estudio. El aislamiento de *Bacillus thuringiensis* se llevó a cabo de acuerdo a la metodología previamente descrita (3). Estrategias microscópicas fueron empleadas para evaluar la presencia de spora y cristal paraesporal. La caracterización bioquímica de los aislados obtenidos se llevó a cabo con base en protocolos típicos (4). La identificación molecular se llevó a cabo mediante amplificación, secuenciación y análisis de la región *16SrDNA* siguiendo las condiciones de reacción previamente reportadas (5). La diversidad y distribución de genes de toxina insecticida (*cry1*, *cry2* y *vip3A*) fueron determinadas mediante PCR con base en las condiciones descritas (6).

Resultados. Un total de 45 aislados con características macroscópicas y microscópicas propias de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), tales como presencia de spora y cristal paraesporal, fueron obtenidos a partir de 15 muestras de suelo colectadas en las principales regiones de cultivo de caña de azúcar del estado de Nayarit. El índice *Bt* obtenido correspondió a 0.64-0.69, indicando una buena incidencia de especie en el hábitat (7). La frecuencia de morfología de cristal en los aislados obtenidos fue en el orden de: esférico>bipiramidal>amorfo/cuadrado, sugiriendo el perfil insecticida de los aislados preferentemente contra lepidópteros y dípteros (2). Los análisis bioquímicos mostraron que 18 de los 45 aislados evaluados presentan actividad de amilasa, catalasa y hemolisina, particulares de *Bt*. Los análisis bioinformáticos de la región *16SrDNA* mostraron que

los 18 aislados obtenidos presentan gran similitud con aislados de la especie *Bacillus thuringiensis*, confirmando con ello su identidad.

Los análisis de diversidad y distribución de genes *cry1*, *cry2* y *vip3A*, codificantes para proteínas insecticidas específicas para lepidópteros, mostraron la presencia de 2 perfiles génicos entre los aislados nativos de *Bt*. La presencia del gen *cry1* fue identificada en el total de las cepas evaluadas, *cry2* fue observado en el 94.4% (17/18) de los aislados, mientras que el 44% (8/18) mostró la presencia de gen *vip3A*. **Tabla 1.**

AISLADO	CRISTAL	<i>cry1</i>	<i>cry2</i>	<i>vip3A</i>
<i>Bt</i> HD-1		+	+	+
B6	B	+	+	
B12	C	+	+	+
B13	B	+	+	+
B23	E	+	+	
B24	E	+	+	+
B25	E	+	+	+
D6	E	+	+	+
D8	E	+	+	
D12	E	+	+	+
D20	B	+	+	+
E2	E	+	+	
E3	E	+	+	
E7	E	+	+	
E9	B	+	+	
E10	E	+	+	+
E13	A	+	+	
E17	B	+	+	
F3	B	+	+	

B= bipiramidal, E= esférico, C= cuadrado, A= amorfo

Conclusiones. Aislados nativos de *Bacillus thuringiensis*, obtenidos a partir de cultivos de caña de azúcar en Nayarit, presentan potencial entomocida contra lepidópteros.

Agradecimientos. Proyecto financiado con recurso otorgado al CA-266 Investigación Bioquímica, convocatoria: "Productividad universitaria a través de la investigación 2017" Patronato UAN.

Bibliografía.

- Ruiz J *et al.* (2013). Plagas de importancia económica en México: Aspectos de su biología y ecología. INIFAP-CIRPAC-Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. 447
- Sauka H, Benintende G (2008). Rev Argent Microbiol. 40 (2):124-140.
- Travers RS, Martin PAW, Reichelderfer CF (1987). Appl Environ Microbiol. 53:1263-1266.
- Bergey DH, Buchanan RE, Gibbons NE (2001). Bergey's Manual of systematic bacteriology. Vol 3. Firmicutes. Vos P, *et al.* (eds) New York Springer.
- Shishir A, *et al.* (2014). Front Environ Sci. 2.
- Sauka D, Benintende GB (2017). Rev Argent Microbiol. (in press).
- Carreras B (2009) Fitosanidad. 13(2):109-115.

